

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Organiskās ķīmijas tehnoloģijas institūts
Bioloģiski aktīvo savienojumu ķīmijas tehnoloģijas katedra

RIGA TECHNICAL UNIVERSITY

Faculty of Materials Science and Applied Chemistry
Institute of Technology of Organic Chemistry
Department of Chemical Technology of Biologically Active Compounds

Jekaterīna IVANOVA

Doktora studiju programmas "Ķīmija" doktorante
Doctoral Student of the Study Programme "Chemistry"

OGĻSKĀBES ANHIDRĀŽU UN TIOREDOKSĪNREDUKTĀZES INHIBITORU KĀ POTENCIĀLO PRETVĒŽA SAVIENOJUMU SINTĒZE

Promocijas darba kopsavilkums

SYNTHESIS OF THE INHIBITORS OF CARBONIC ANHYDRASES AND THIOREDOXIN REDUCTASE AS POTENTIAL ANTICANCER AGENTS

Summary of the Doctoral Thesis

Zinātniskais vadītājs
docents *Dr. chem.* RĀIVIS ŽALUBOVSKIS

Scientific supervisor
Docent *Dr. chem.* RĀIVIS ŽALUBOVSKIS

**RTU Izdevniecība
RTU Press
2017**

Ivanova J. Ogļskābes anhidrāžu un tioredoksīnreduktāzes inhibitoru kā potenciālo pretvēža savienojumu sintēze. Promocijas darba kopsavilkums. – Rīga: RTU Izdevniecība, 2017. – 49 lpp.

Ivanova J. Synthesis of the Inhibitors of Carbonic Anhydrases and Thioredoxin Reductase as Potential Anticancer Agents. Summary of the Doctoral Thesis. – Riga: RTU Press, 2017. – 49 p.

Iespiests saskaņā ar RTU promocijas padomes "RTU P-01" 2017. gada 19. oktobra lēmumu, protokols Nr. 4.

Published in accordance with the decision of Promotion Council "RTU P-01" of 19 October 2017, Minutes No 4.

ISBN 978-9934-22-032-6 (print)

ISBN 978-9934-22-033-3 (pdf)

PROMOCIJAS DARBS IZVIRZĪTS ĶĪMIJAS DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs ķīmijas zinātņu doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2018. gada 11. janvārī Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un Lietišķās ķīmijas fakultātē, Rīgā, Paula Valdena ielā 3, 272. auditorijā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Profesors *Dr. chem.* Māris Turks
Rīgas Tehniskā universitāte

Vadošā pētniece *Dr. chem.* Aiva Plotniece
Latvijas Organiskās sintēzes institūts

Profesors *Dr. habil. chem.* Raimonds Valters
Latvijas Zinātņu akadēmija

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi šo promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē ķīmijas zinātņu doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs zinātniskā grāda iegūšanai nav iesniegts nevienā citā universitātē.

Jekaterīna Ivanova (Paraksts)

Datums:

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, tajā ir ievads, literatūras apskats, rezultātu izvērtējums, eksperimentālā daļa, secinājumi, literatūras saraksts, pielikums, 64 attēli, 14 tabulas, kopā 121 lappuse. Literatūras sarakstā ir 89 literatūras avoti.

SATURS / CONTENT

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS.....	5
Tēmas aktualitāte.....	5
Pētījuma mērķis un uzdevumi.....	6
Zinātniskā novitāte un galvenie rezultāti	6
PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI.....	7
1. 2-Aizvietota 6-sulfamoilsaharīna atvasinājumu sintēze, hidrolīze un CA inhibēšanas aktivitātes raksturojums.....	7
2. 2-Aizvietota saharīna atvasinājumu sintēze, hidrolīze un CA inhibēšanas aktivitātes raksturojums	10
3. Aromātisko sulfonamīdu sintēze un CA inhibēšanas aktivitātes raksturojums.....	12
4. Leakadīna atvasinājumu sintēze, to TrxR inhibēšanas aktivitāte un pretvēža aktivitāte	16
SECINĀJUMI	24
GENERAL OVERVIEW OF THE THESIS	26
Introduction	26
Aims and objectives	27
Scientific novelty and main results	27
MAIN RESULTS OF THE THESIS	28
1. Synthesis and hydrolysis of the derivatives of 2-substituted 6-sulfamoylsaccharin, and determination of CA inhibitory activity	28
2. Synthesis, hydrolysis and CA inhibitory activity of 2-substituted derivatives of saccharin	31
3. Synthesis and CA inhibitory activity of aromatic sulfonamides	33
4. Synthesis, TrxR inhibitory activity and anti-cancer activity of Leakadin derivatives	37
CONCLUSIONS.....	45
PUBLIKĀCIJAS / PUBLICATIONS.....	46
LITERATŪRAS SARAKSTS / REFERENCES.....	48

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

Tēmas aktualitāte

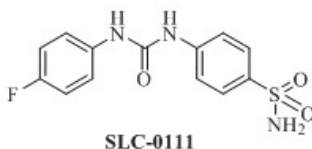
Pēc Slimību profilakses un kontroles centra informācijas onkoloģiskās slimības kā nāves cēlonis Latvijā ieņem otro vietu aiz asinsrites sistēmas slimībām. Latvijā uzskaitē gada beigās esošo onkoloģisko pacientu skaits ir pieaudzis no 49 272 pacientiem 2000. gadā līdz 73 983 pacientiem 2016. gadā. Pēc statistikas datiem Latvijā 2016. gadā 5895 cilvēkiem iestājās ļaundabīga audzēja izraisīta nāve [1].

Pastāv vairākas stratēģijas vēža ārstēšanai, un šī darba izstrādes gaitā mēs pievēršamies divām no tām.

Viena no pieejām ir ogļskābes anhidrāžu (CA) inhibitoru izveide.

Zināms, ka cinku saturošo enzīmu ogļskābes anhidrāžu 9. un 12. izoformas (CA IX un CA XII) ir paaugstināti ekspresētas hipoksijai pakļautos audzējos, tāpēc CA IX un XII ir definēti par zāļu mērķiem hipoksijai pakļauto audzēju ārstēšanai. Lai izvairītos no nevēlamajiem blakusefektiem, jānodrošina selektīva CA IX un XII inhibēšana.

Pašlaik klīnikā kā pretvēža līdzekli nelieto nevienu CA inhibitoru, taču šobrīd savienojumam SLC-0111 (1. att.) ir pabeigti pirmās klīniskās fāzes pētījumi [2, 3], un tas tiek gatavots otrās klīniskās fāzes pētījumiem. Galvenais SLC-0111 trūkums ir relatīvi zema CA IX inhibēšanas selektivitāte, salīdzinot ar CA II (nemērķa enzīms, *off-target*), kas var izraisīt dažādus blakusefektus. Tāpēc joprojām ir aktuāla CA IX un CA XII inhibitoru klāsta paplašināšana un selektīvu inhibitoru meklējumi.



1. att. CA inhibitora SLC-0111 struktūra.

Otrs darba virziens ir tioredoksīnreduktāzes inhibitoru sintēze.

Tioredoksīnreduktāzei (TrxR) ir svarīga loma visos bioķīmiskajos procesos, kuros ir iesaistīts tioredoksīns, piemēram, ribonukleotīdu reducēšanā līdz dezoksiribonukleotīdiem, oksidētāju un radikāļu neitralizācijā u. c. Tioredoksīnreduktāzei ir nozīmīga loma dažādu fizioloģisko un patoloģisko procesu (apoptoze, vēzis, hronisks iekaisums, autoimūnās slimības, neiroleģeneratīvās slimības) norisē [4]. Novērots, ka TrxR bieži ir paaugstināti ekspresēta vēža gadījumā, tāpēc TrxR1 ir uzskatāma par svarīgu mērķi pretvēža terapijā [5].

Pētījuma mērķi un uzdevumi

Pētījuma mērķi:

1. ogļskābes anhidrāžu inhibitoru izveide;
2. tioredoksīnreduktāzes inhibitoru izveide.

Promocijas darba galvenie uzdevumi:

1. saharīna un aizvietotā saharīna *N*-alkilatvasinājumu sintēze un to hidrolīze ar mērķi iegūt aizvietotās sulfamoilbenzoscābes, un CA inhibēšanas aktivitātes noteikšana;
2. aromātisko sulfonamīdu sintēze un CA inhibēšanas aktivitātes noteikšana;
3. leakadīna atvasinājumu sintēze ar aizvietotāju ievadīšanu aziridīna ciklā un pie amīdgrupas *N*, TrxR inhibēšanas aktivitātes un pretvēža aktivitātes noteikšana.

Zinātniskā novitāte un galvenie rezultāti

Sintezēta virkne *N*-alkilsaharīnu un *N*-alkil-6-sulfamoilsaharīnu, veikta to hidrolīze, iegūstot aizvietotās sulfamoilbenzoscābes. Visiem iegūtajiem produktiem noteikta hCA I, II, IX un XII inhibēšanas aktivitāte. 6-Sulfamoilsaharīna atvasinājumu hidrolizētās formas labāk inhibē ar vēzi saistīto transmembrāno izoformu hCA IX nekā to cikliskie analogi, savukārt cikliskie 6-sulfamoilsaharīna alkilatvasinājumi ir spēcīgāki hCA XII inhibitori nekā to atvērtās formas. Saharīna atvasinājumi (gan cikliskie, gan hidrolizētie) ir selektīvi hCA IX un XII inhibitori, tie neinhibē hCA I un II, kas ir nemērķa enzīmi (*off-target*).

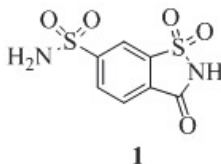
Ir sintezēta virkne aril- un hetaril- aizvietotājus saturošo sulfonamīdu. Daļai produktu tika noteikta CA I, II, IX un XII inhibēšanas aktivitāte, pārējiem savienojumiem CA inhibēšana promocijas darba iesniegšanas brīdī vēl nebija noteikta. No pašlaik pieejamiem datiem secinājām, ka tiofēna ciklu saturošie sulfonamīdi ir labāki CA inhibitori nekā benzola gredzenu saturošie.

Sintezēta virkne leakadīna atvasinājumu ar aizvietotājiem pie cikla *N* un amīdgrupas *N*. Visiem iegūtajiem aziridīna atvasinājumiem noteikta TrxR inhibēšanas aktivitāte, kā arī citotoksicitāte uz vēža šūnu līnijām HT-1080 (cilvēka saistaudu fibrosarkoma), SHSY5Y (cilvēka neuroblastoma), MCF-7 (cilvēka krūts adenokarcinoma). Daži no sintezētajiem aziridīna atvasinājumiem inhibē TrxR pat par 100 %, savukārt daži izrāda TrxR aktivēšanas efektu, un, balstoties uz šajā darbā apkopotajiem rezultātiem, ir diezgan grūti izdarīt secinājumus par struktūras – aktivitātes likumsakarībam, taču iegūtie rezultāti norāda, ka sintezētajiem leakadīna atvasinājumiem ir augsts potenciāls pretvēža zāļu izveidei.

PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI

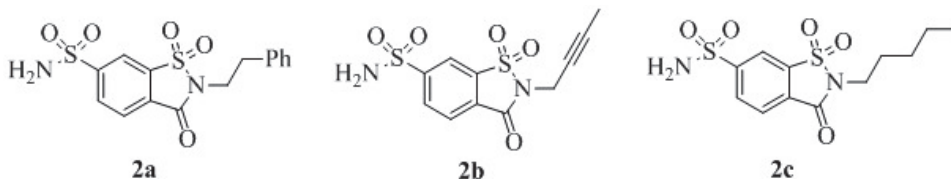
1. 2-Aizvietota 6-sulfamoilsaharīna atvasinājumu sintēze, hidrolīze un CA inhibēšanas aktivitātes raksturojums

Sadarbībā ar Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centru veicām 6-sulfamoilsaharīna (**1**) (2. att.) un hCA II kokristalizāciju un ieguvām rentgenstruktūru, tā parādot, ka tikai pirmējais sulfonamīds mijiedarbojas ar enzīma metāla jonu [6].

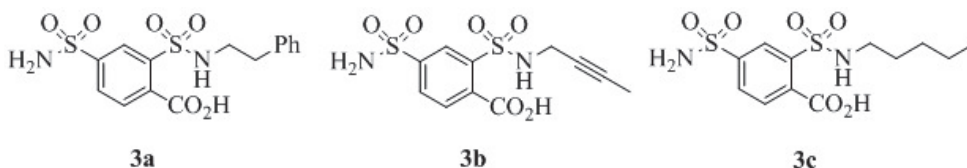


2. att. 6-Sulfamoilsaharīns.

Bakalaura darbā [7] sintezētajiem savienojumiem **2a-c** (3. att.) novērojām, ka, veicot to kokristalizāciju ar hCA II, notiek saharīna izotiazola cikla atvēršanās, kā rezultātā ieguvām hCA II un savienojumu **3a-c** kokristālus (4. att.).

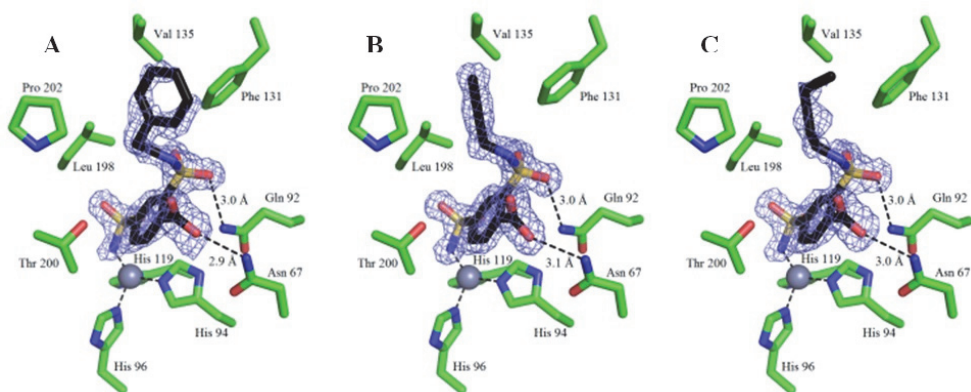


3. att. 6-Sulfamoilsaharīna alkilētie atvasinājumi.



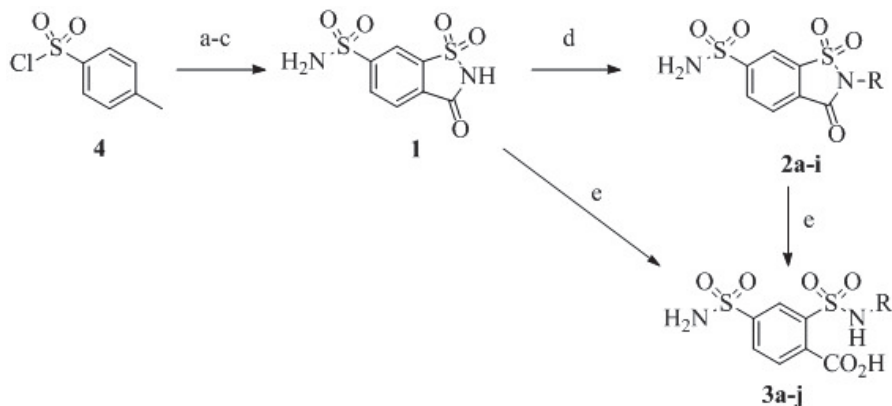
4. att. *N*-Alkil-6-sulfamoilsaharīna hidrolizētās formas.

Visticamāk, hidrolīze un cikla atvēršanās notiek nevis paša enzīma ietekmē (CA nav raksturīga peptidāzes aktivitāte), bet gan kristalizācijas buferšķīduma augstā pH (9,0) dēļ. 5. attēlā ir redzamas hCA II un sintezēto inhibitoru **3a-c** kompleksu rentgenstruktūras [8].



5. att. A) hCA II un **3a** rentgenstruktūra; B) hCA II un **3b** rentgenstruktūra;
C) hCA II un **3c** rentgenstruktūra [8].

6-Sulfamoilsaharīnu (**1**) sintezējām no tozilhlorīda **4**, veicām tā alkilēšanu un hidrolīzes reakcijas (6. att.).



a) ClSO_3H ; b) NH_4OH ; c) H_5IO_6 , CrO_3 , MeCN ; d) RBr , K_2CO_3 ; e) NaOH , $\text{THF/MeOH/H}_2\text{O}$

6. att. 6-Sulfamoilsaharīna atvasinājumu sintēze.

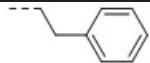
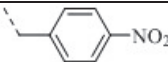
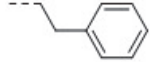
Citosolās izoformas hCA I inhibēšanas aktivitāte ir samērā plašā diapazonā, K_i ir no 2,6 līdz 451 nM (1. tabula). Savienojums **3j** bija vienīgais, kas uzrādīja zemu hCA I inhibēšanas aktivitāti, savukārt savienojumu **1**, **2d**, **3h** un CA inhibitora acetazolamīda (AAZ) inhibēšanas aktivitāte ir līdzīga. Ja mēs salīdzinām ciklisko un atvērto saharīna formu inhibēšanas spējas, tad, piemēram, cikliskajām formām **2b** un **2h** ir attiecīgi 27 un 43 reizes labāka hCA I inhibēšanas aktivitāte nekā hidrolizētajām (**3b** un **3h**). Pārsvārā visas cikliskās formas bija aktīvākas par atvērtajām, izņemot pārus **2d/3d** un **2i/3i**.

Kopumā visi savienojumi, izņemot **5**, uzrādīja augstāku hCA II inhibēšanas aktivitāti ($K_i = 0,2\text{--}8,4$ nM) nekā klīnikā lietotais antiglaukomas līdzeklis acetazolamīds (**AAZ**) ($K_i = 12$ nM). Šajā gadījumā cikliskās formas ir nedaudz aktīvākas par atvērtajām, taču ne vienmēr, un šī atšķirība nav tik liela, kā hCA I gadījumā. Redzams arī, ka, pagarinot alifātisko ķēdi no diviem līdz četriem oglekļa atomiem, hCA II inhibēšanas spēja pieaug, bet, ieviešot molekulā pentil-aizvietotāju, aktivitāte atkal samazinās, savukārt savienojumi ar nepiesātinātiem vai aril(alkil)-(benzil-, 4-aizvietotie benzil- un fenil(etil)-) aizvietotājiem uzrādīja labu hCA II inhibēšanas aktivitāti.

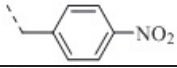
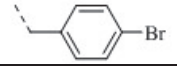
Apskatot ar vēzi saistītās transmembrānās izoformas hCA IX inhibēšanu, novērojām, ka šajā gadījumā situācija ir pretēja, t. i., saharīna atvērtās formas ir labāki inhibitori nekā cikliskās formas. Savienojumu **3a**, **3d**, **3i** un **3j** inhibēšanas spēja ($K_i = 42,1\text{--}92,9$ nM) vairāk nekā četras reizes pārsniedz attiecīgo ciklisko formu inhibēšanas aktivitāti.

hCA XII izoformu labāk inhibē saharīna cikliskie atvasinājumi nekā hidrolizētie. Vairāki sintezēti savienojumi uzrādīja inhibēšanas aktivitāti ($K_i = 5,2\text{--}14,3$ nM), kas ir salīdzināma ar acetazolamīda inhibēšanas aktivitāti ($K_i = 5,7$ nM).

1. tabula. 6-Sulfamoilsaharīna atvasinājumu **1**, **2a-i**, **3a-j** CA inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	K_i (nM)			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
1	H	251	8,4	337	52,9
2a		9,1	0,4	378	6,7
2b		4,6	0,4	271	9,5
2c	<i>n</i> -pentil	4,3	3,5	380	5,2
2d	Et	257	1,0	452	7,2
2e	<i>n</i> -Pr	49	0,6	278	5,9
2f	<i>n</i> -Bu	4,8	0,6	51,2	5,7
2g	Bn	2,6	0,4	51,8	5,8
2h		4,9	0,2	52,9	7,9
2i		57,8	0,8	321	14,3
3a		59,0	2,8	71,6	48,6
3b		125	0,7	78,1	67,8

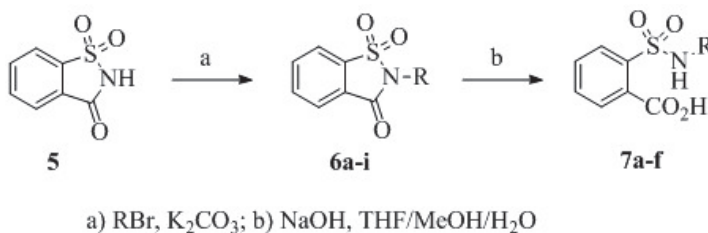
1. tabulas turpinājums. 6-Sulfamoilsaharīna atvasinājumu **1**, **2a-i**, **3a-j** CA inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	K_i (nM)			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
3c	<i>n</i> -pentil	29,9	6,0	333	68,3
3d	Et	66,2	1,7	92,8	77,7
3e	<i>n</i> -Pr	81,4	0,2	89,5	63,6
3f	<i>n</i> -Bu	41,4	1,1	130	58,7
3g	Bn	64,0	1,5	67,4	50,5
3h		213	2,2	73,6	195
3i		38,7	0,3	70,5	27,0
3j	H	451	31,7	42,1	63,3
AAZ	—	250	12	25	5,7

Interesanti, ka šajā pētījumā potenciālo CA inhibitoru konstruēšanu veicināja kristalogrāfijas pētījumi, kuru rezultātā izrādījās, ka saharīna cikls sārmainās hidrolīzes apstākļos var atvērties, veidojot sulfamoilbenzoscābju atvasinājumus, un tie saistās CA aktīvajā centrā. Savienojumi **3a-i** ir selektīvi hCA II inhibitori, kas var būt svarīgi antiglaukomas līdzekļu meklējumos, jo CA II ir mērķenzīms antiglaukomas CA inhibitoru konstruēšanā.

2. 2-Aizvietota saharīna atvasinājumu sintēze, hidrolīze un CA inhibēšanas aktivitātes raksturojums

Lai paplašinātu CA inhibitoru klāstu saharīna (**5**) atvasinājumu rindā, sintezējām virkni *N*-aizvietoto saharīnu **6a-i** un hidrolizējām dažus no tiem bāziskā vidē, iegūstot aizvietotās sulfamoilbenzoscābes **7a-f** (7. att.).



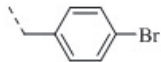
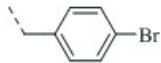
7. att. Saharīna atvasinājumu sintēze.

Sintezētie saharīna atvasinājumi un sulfamoilbenzoscābes neinhibē citosolās izoformas hCA I un hCA II (2. tabula). Tas tika novērots arī iepriekš citiem saharīna atvasinājumiem [6, 9–14]. Šī īpašība ir nozīmīga selektīvu CA inhibitoru meklējumos, kad ir svarīgi atrast tādus savienojumus, kas inhibētu tikai ar vēzi saistītās hCA IX un hCA XII.

Analizējot hCA IX inhibēšanas rezultātus, var teikt, ka labāko inhibēšanas aktivitāti uzrāda savienojumi **6a**, **6b** un **6i**, kuru aizvietotāji satur aromātisko fragmentu. Interesanti, ka 4-brombenzil- aizvietotam savienojumam **6b** piemīt četras reizes augstāka hCA IX inhibēšanas spēja nekā benzil- aizvietotam (**6a**), bet, nomainot bromu ar nitrogrupu, aktivitāte samazinās (savienojumam **6c** ir 53 reizes zemāka inhibēšanas aktivitāte nekā savienojumam **6b**). Pārējie saharīna atvasinājumi uzrādīja vidēji zemu hCA IX inhibēšanas aktivitāti ($K_i = 103\text{--}481$ nM) neatkarīgi no aizvietotājiem. Saharīna "atvērtajām formām" jeb sulfamoilbenzoscābju atvasinājumiem ir vidējā hCA IX inhibēšanas aktivitāte.

Sintezētie savienojumi inhibēja hCA XII labāk ($K_i = 3,9\text{--}245$ nM) nekā hCA IX. Tie visi ir labāki inhibitori nekā saharīns. Labākais šīs izoformas inhibitors ir savienojums **6b** ($K_i = 4,3$ nM), kura molekulā ir 4-brombenzilgrupa. Zemākā inhibēšanas aktivitāte piemīt atvasinājumiem **7c** un **7d**, kuriem ir alifātiskie aizvietotāji.

2. tabula. Saharīna atvasinājumu **6a-i** un **7a-i** CA inhibēšanas aktivitāte

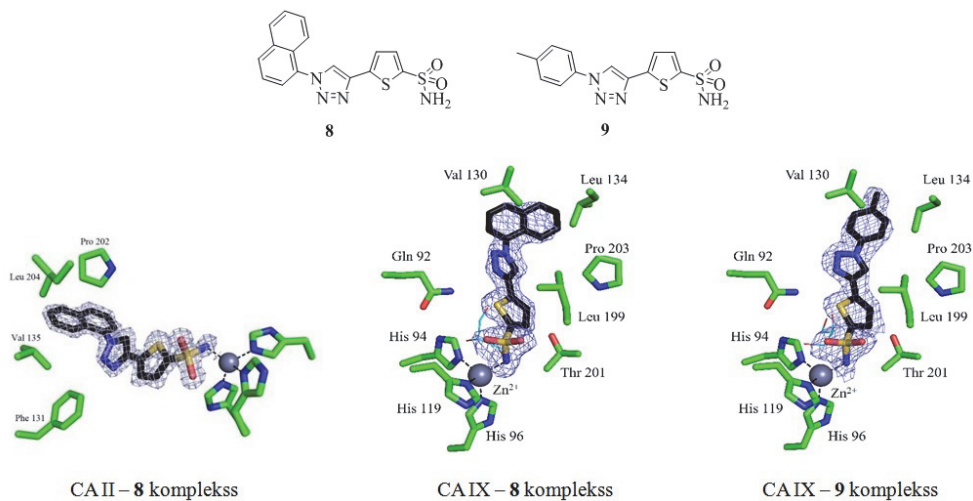
Sav.	R	K_i , nM			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
Saharīns (5)	—	18540	5950	103	633
6a	Bn	> 10000	> 10000	89,2	18,7
6b		> 10000	> 10000	22,1	4,3
6c		324	> 10000	1169	29,0
6d		> 10000	> 10000	236	45,1
6e		> 10000	> 10000	209	37,9
6f		> 10000	> 10000	164	36,5
6g		> 10000	> 10000	102	34,0
6h		> 10000	> 10000	563	43,7
6i		> 10000	> 10000	76,1	10,4
7a	Bn	> 10000	> 10000	342	125
7b		> 10000	> 10000	277	86,4
7c		> 10000	> 10000	481	245
7d		> 10000	> 10000	436	227
7e		> 10000	> 10000	392	151

2. tabulas turpinājums. Saharīna atvasinājumu **6a-i** un **7a-i** CA inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	K_i , nM			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
7f		> 10000	> 10000	250	74,6
AAZ	—	250	12	25	5,6

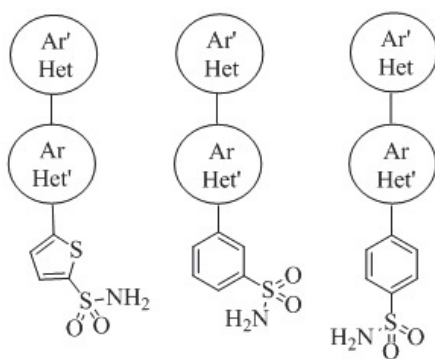
3. Aromātisko sulfonamīdu sintēze un CA inhibēšanas aktivitātes raksturojums

Sadarbībā ar Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centru, izmantojot iepriekš konstruētos un mūsu grupā sintezētos CA inhibitorus (**8** un **9**), tika iegūtas un publicētas CA II – **8**, CA IX – **8** un CA IX – **9** kompleksu rentgenstruktūras (8. att.) [15].



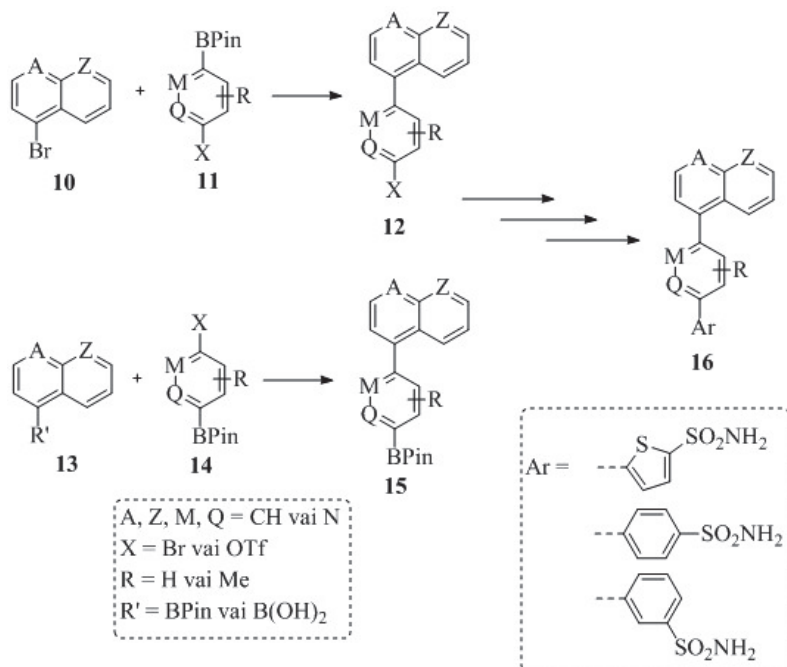
8. att. Savienojumu **8** un **9** struktūra un to kokristāli ar CA II un CA IX [15].

Balstoties uz iegūtajiem enzīmu-inhibitoru rentgenstruktūranalīzes datiem, sadarbībā ar profesoru K. Tāru veicām jaunu potenciālo CA IX selektīvu inhibitoru konstruēšanu ar molekulārā dokinga metodes palīdzību. Balstoties uz šo dokingu, plānojām iegūt virkni sulfonamīdu (8. att.). Šie inhibitori konstruēti kā pašpielāgojošies inhibitori, t. i., tie var pastāvēt vairāku atropizomēru (rotamēru) formā un spēj pielāgoties aktīvā centra formai līdz robežai, kas joprojām nodrošina selektīvu mērķenzīma izoformu inhibēšanu. Potenciālo inhibitoru molekulas konstruētas no trīs būvblokiem – Ar'/Het, Ar'/Het' un sulfonamīda grupu saturoša (tiofēna vai benzola gredzens) fragmenta (9. att.).



9. att. CA inhibitoru shematisks attēlojums.

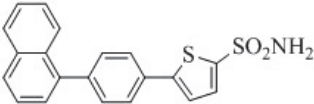
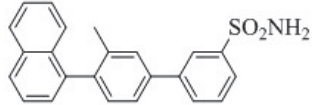
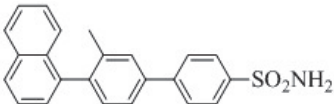
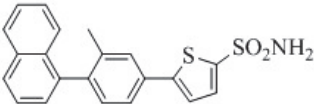
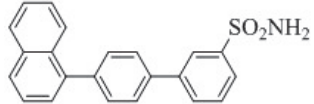
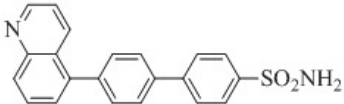
Produktu **16** vispārīgā sintēzes shēma ir parādīta 10. attēlā. 4- vai 5-bromhinolīna **10** Suzuki reakcijā ar sintezētajiem pinakolborātiem **11** veidojās halogenīdi vai pseidohalogenīdi **12**, savukārt, iesaistot borskābes vai pinakolborātus **13** Suzuki reakcijā ar savienojumiem **14**, ieguvām biarilus **15**. No biariliem **12** vai **15** vienas vai nepieciešamības gadījumā vairāku reakciju rezultātā ieguvām produktus **16**. Suzuki reakcijas veicām paaugstinātā temperatūrā, izmantojot dažādus pallādija katalizatorus ($\text{Pd(PPh}_3)_4$, Pd(dppf)Cl_2 , Pd(OAc)_2 , $\text{Pd(PPh}_3)_2\text{Cl}_2$), bāzes (KOAc , K_3PO_4 , K_2CO_3) un šķīdinātājus (DMF , dioksāns, MeCN/MeOH).



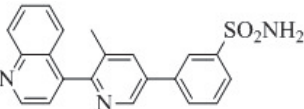
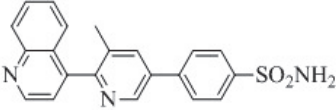
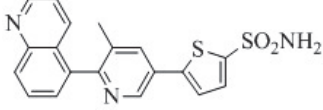
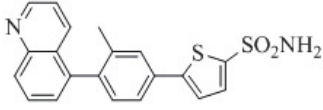
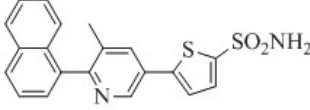
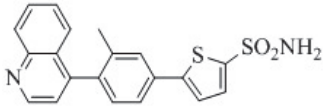
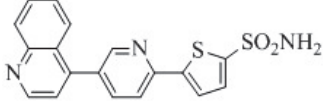
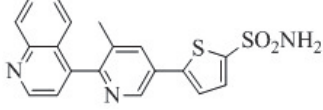
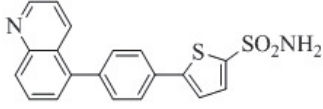
10. att. Sulfonamīdu **16** sintēzes vispārīgā shēma.

3. tabulā apkopoti dati par sintezēto sulfonamīdu bioloģisko aktivitāti. Daļai savienojumu CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta, tāpēc šobrīd ir diezgan grūti izdarīt secinājumus par struktūras – aktivitātes likumsakarībām, taču arī no esošajiem datiem var redzēt, ka tiofēna ciklu saturošie produkti uzrāda nedaudz labāku hCA I inhibēšanas aktivitāti. Arī hCA II vislabāk inhibē tieši tiofēna fragmentu saturošie savienojumi. Visaugstāko hCA IX inhibēšanas spēju uzrāda savienojums **16d** ($IC_{50} = 6$ nM), kas ir arī labākais hCA XII inhibitors ($IC_{50} = 31$ nM).

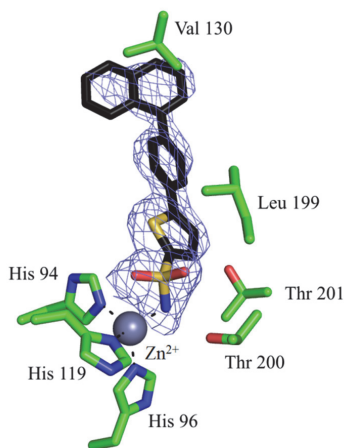
3. tabula. Savienojumu **16a-p** CA inhibēšanas aktivitāte

Struktūra	IC_{50} , nM			
	hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
 16a	8944	135	483	559
 16b	7638	4203	821	7599
 16c	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16d	850	41	6	31
 16e	9224	4267	8794	3408
 16f	9094	273	777	6405
 16g	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			

3. tabulas turpinājums. Savienojumu **16a-p** CA inhibēšanas aktivitāte

Struktūra	IC ₅₀ , nM			
	hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
 16h	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16i	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16j	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16k	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16l	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16m	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16n	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16o	CA inhibēšana pašlaik tiek noteikta			
 16p	3446	16	294	376

Profesora K. Tāra grupā veiksmīgi ir veikta CA IX kokristalizācija ar savienojumu **16a**, un ir iegūta CA IX – **16a** rentgenstruktūra (11. att.).

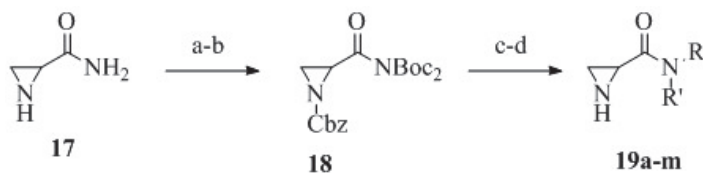


11. att. Savienojuma **16a** un CA IX rentgenstruktūra.

4. Leakadīna atvasinājumu sintēze, to TrxR inhibēšanas aktivitāte un pretvēža aktivitāte

Otrs promocijas darba darba virziens bija aziridīna atvasinājumu, kas izrāda tioredoksīnreduktāzes inhibēšanas aktivitāti, sintēze.

Aziridīna atvasinājumus **19a-m** ieguvām, aizsargājot leakadīnu (**17**) un iegūto savienojumu **18** pakļaujot reakcijām ar amīniem ar sekojošu Cbz aizsarggrupas noņemšanu (12. att.).



a) CbzCl, NaHCO₃, H₂O, EtOAc; b) Boc₂O, DMAP, DCM;
c) HNRR', DCM; d) H₂, Pd/C, MeOH

12. att. Leakadīna atvasinājumu **19a-m** sintēze.

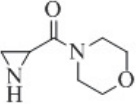
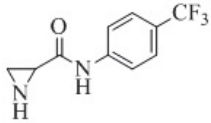
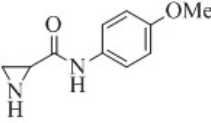
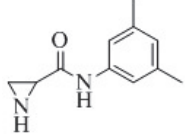
4. tabulā apkopota informācija par savienojumu **19a-m** citotoksicitāti uz vēža šūnu līnijām HT-1080 (cilvēka saistaudu fibrosarkoma), SHSY5Y (cilvēka neuroblastoma), MCF-7 (cilvēka krūts adenokarcinoma) un TrxR inhibēšanu (attēlots procentos). Savienojumam **19h** citotoksiskais efekts uz visām trim šūnu līnijām nav konstatēts, savienojumam **19a** citotoksiskais efekts nav

konstatēts uz šūnu līnijām HT-1080 un MCF-7. Abus savienojumus, kas neuzrāda citotoksisko efektu uz vienas vai vairākām šūnu līnijām, vieno tas, ka tie nesatur aromātisko sistēmu. Kopumā augstāks citotoksiskais efekts no savienojumu grupas, kur pie amīda ir aizvietots fenilgredzens, ir tiem atvasinājumiem, kur aizvietotājs ir *para* vietā. Zemākās IC₅₀ vērtības uz šūnu līnijas SHSY5Y ir savienojumiem **19b** un **19g**, kur attiecīgi aizvietotāji CF₃ un *t*-Bu atrodas *para* vietā benzola gredzenā.

Ja apskata benzilaizvietotus amīdus, var redzēt, ka uz visām trim šūnu līnijām visaugstāko citotoksicitāti uzrāda savienojums **19m**, kuram *meta* vietā ir Et aizvietotājs.

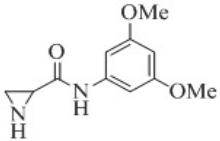
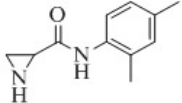
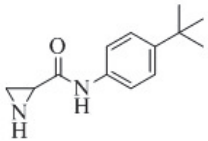
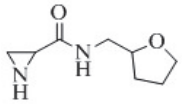
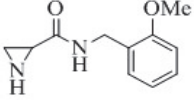
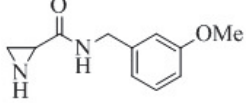
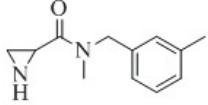
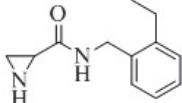
Negaidīti izrādījās, ka divi no sintezētajiem savienojumiem aktivē nevis inhibē TrxR (**19a**, **19e**). Neliels aktivēšanas efekts piemīt arī savienojumiem **19i**, **19k** un **19m**. Pārējie savienojumi ir TrxR inhibitori (4. tabula). Visaugstākā TrxR inhibēšanas spēja piemīt savienojumam **19c**, tas inhibē enzīmu par 93 %. Benzilatvasinājumi **19i-m** neinhibē TrxR.

4. tabula. Aziridīnu **19a-m** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (c = 0,2 mM)
	HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
 19a	*	2,7	*	-13 ± 5
 19b	0,11	0,048	0,13	73 ± 6
 19c	1,1	0,86	1,2	93 ± 9
 19d	0,45	0,19	1,1	8 ± 6

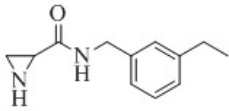
* – citotoksiskais efekts nav konstatēts.

4. tabulas turpinājums. Aziridīnu **19a-m** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (c = 0,2 mM)
	HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
 19e	1,5	0,72	1,1	-32 ± 7
 19f	2,3	1,8	1,6	69 ± 6
 19g	0,15	0,092	0,17	17 ± 6
 19h	*	*	*	4 ± 6
 19i	0,53	0,89	1,7	-5 ± 4
 19j	0,56	0,50	0,62	5 ± 3
 19k	0,51	0,54	1,7	-3 ± 3
 19l	0,47	0,55	0,54	3 ± 4

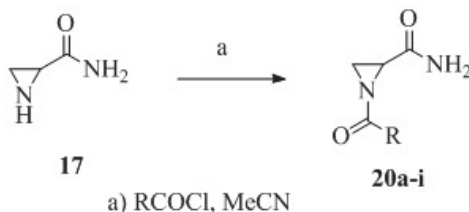
* – citotoksiskais efekts nav konstatēts.

4. tabulas turpinājums. Aziridīnu **19a-m** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (c = 0,2 mM)
	HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
 19m	0,11	0,13	0,11	-5 ± 1

* – citotoksiskais efekts nav konstatēts.

Leakadīna (**17**) reakcijas ar attiecīgajiem acilhlorīdiem notika vienā stadijā (13. att.); ieguvām virkni acilēto aziridīnu **20a-i**.



13. att. Leakadīna acilēšana.

N-Acilēto aziridīnu rindā augstāka citotoksicitāte piemīt savienojumiem ar aromātisko sistēmu molekulā (savienojumi **20f-i**) (5. tabula). Šiem savienojumiem IC₅₀ uz šūnu līnijas HT-1080 ir 0,17–0,25 mM, uz MCF-7 – 0,18–0,77 mM, uz SHSY5Y savienojumiem **20f**, **20g**, **20i** – 0,015–0,78 mM. Ja salīdzinām savienojumu **20e** (ar furil- aizvietotāju) un **20f** (ar tiofēn-2-il- aizvietotāju) citotoksicitāti, tad tiofēna ciklu saturošam atvasinājumam ir augstāka citotoksicitāte uz visām trim šūnu līnijām. Savienojumiem **20a**, **20c** un **20d** citotoksiskais efekts nav novērots.

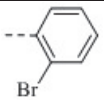
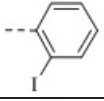
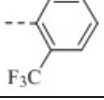
Visi savienojumi, izņemot **20d** un **20g**, ir TrxR inhibitori. No acilētajiem aziridīniem savienojumi **20a** un **20h** inhibē TrxR par vairāk nekā 70 %, pie tam **20h** spēj noinhibēt enzīmu pat par 100 %.

5. tabula. Aziridīnu **20a-i** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (c = 0,2 mM)
		HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
20a	Me	3,2	3,1	*	89 ± 10

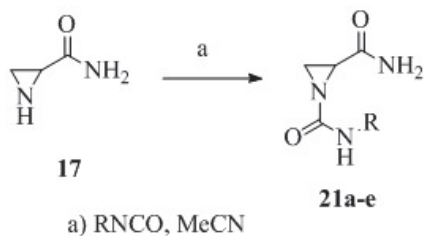
* – citotoksiskais efekts nav konstatēts.

5. tabulas turpinājums. Aziridīnu **20a-i** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (<i>c</i> = 0,2 mM)
		HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
20b	Ph	1,4	1,2	1,4	61 ± 7
20c	<i>i</i> -Pr	5,6	2,6	*	49 ± 7
20d	<i>t</i> -Bu	4,8	2,7	*	-36 ± 6
20e		1,2	1,3	1,1	28 ± 5
20f		0,23	0,78	0,71	86 ± 11
20g		0,25	0,015	0,18	-18 ± 6
20h		0,23	1,3	0,53	100 ± 0
20i		0,17	0,17	0,77	58 ± 7

* – citotoksiskais efekts nav konstatēts.

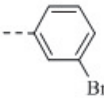
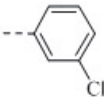
Ir veiktas arī leakadīna (**17**) reakcijas ar izocianātiem, iegūstot savienojumus **21a-e** (14. att.).



14. att. Leakadīna reakcijas ar izocianātiem.

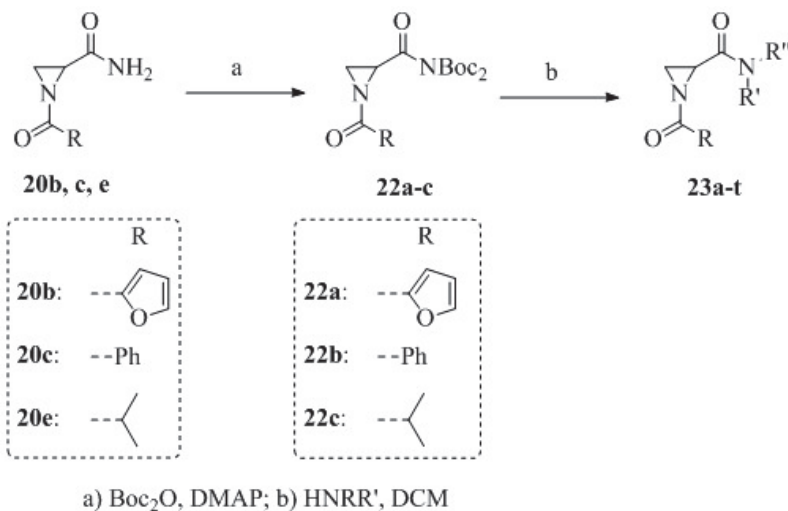
No šīs savienojumu sērijas visi savienojumi ir TrxR inhibitori, labākais no tiem – savienojums **21e** (6. tabula). Divi (**21a** un **21d**) savienojumi TrxR inhibē ļoti vāji.

6. tabula. Aziridīnu **21a-e** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (c = 0,2 mM)
		HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
21a	Pr	0,25	*	*	7 ± 5
21b	<i>t</i> -Bu	0,56	0,60	2,7	18 ± 4
21c	Ph	0,26	0,58	0,79	15 ± 6
21d		0,29	0,15	0,85	7 ± 9
21e		0,10	0,046	0,31	56 ± 8

* – citotoksiskais efekts nav konstatēts.

No *N*-acil- aizvietotiem aziridīniem **20b,c,e**, kurus sākumā aizsargājām ar Boc grupu (sav. **22a-c**), tika sintezēta rinda savienojumu **23a-t** (15. att.), kuriem ir aizvietotāji gan pie aziridīna *N*, gan pie amīda *N*.

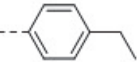
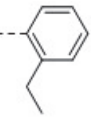
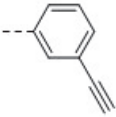
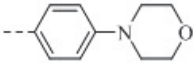
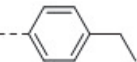
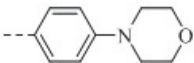


15. att. Leakadīna atvasinājumu **23a-t** sintēze.

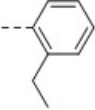
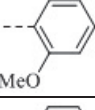
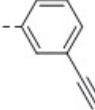
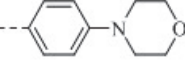
7. tabulā redzams, ka no trim aizvietotājiem pie aziridīna slāpekļa zemāka citotoksicitāte novērojama ar *i*-Pr grupu aizvietotiem aziridīniem **23m-r**, īpaši uz šūnu līnijas HT-1080, savukārt fenil- un 2-furil- aizvietotiem aziridīniem citotoksicitātes uz šūnu līnijas HT-1080 ir līdzīgas.

Lielākā daļa no 7. tabulā redzamiem savienojumiem inhibē TrxR, taču **23g**, **23i**, **23k** un **23m** ir TrxR aktivatori. Aziridīna atvasinājumiem **23d**, **23l** un **23r** ir augsta TrxR inhibēšanas spēja (76–91 %), bet savienojums **23o** inhibē TrxR pat par 100 %.

7. tabula. Aziridīnu **23a-t** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	R'	R''	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (<i>c</i> = 0,2 mM)
				HT- 1080	SHSY5Y	MCF- 7	
23a	Ph	H	Ph	0,45	0,65	1,35	33 ± 3
23b		H		0,17	0,099	0,12	22 ± 4
23c		H		0,83	1,19	1,33	25 ± 6
23d		H		0,46	0,57	1,42	84 ± 5
23e		Me	Ph	0,15	0,56	1,27	19 ± 7
23f		H		0,12	0,09	0,84	50 ± 6
23g		H		0,40	0,47	1,23	−69 ± 11
23h	2-furil-	H	Ph	0,41	0,58	1,45	50 ± 2
23i		H		0,13	0,091	0,13	−89 ± 9
23j		H		0,53	1,27	1,30	65 ± 4
23k		Me	Ph	0,21	0,51	1,34	−37 ± 7
23l		H		0,073	0,45	1,08	91 ± 4
23m	<i>i</i> -Pr	H	Ph	1,20	1,71	1,60	−56 ± 9

7. tabulas turpinājums. Aziridīnu **23a-t** citotoksicitāte un TrxR inhibēšanas aktivitāte

Sav.	R	R'	R''	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibēšana, % (<i>c</i> = 0,2 mM)
				HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
23n	<i>i</i> -Pr	H		1,10	1,59	1,46	55 ± 4
23o		H		1,23	1,62	1,49	100 ± 0
23p		H		1,69	1,70	1,73	63 ± 8
23r		Me	Ph	1,09	1,53	1,44	76 ± 6
23s		H		0,59	0,70	1,47	30 ± 7
23t		H		0,67	1,12	1,90	50 ± 5

SECINĀJUMI

1. 6-Sulfamoilsaharīna *N*-alkilatvasinājumi un to hidrolīzes produkti (disulfamoilbenzoskābju atvasinājumi) nav selektīvi hCA IX/hCA XII inhibitori, bet tie ir selektīvi CA II inhibitori, un tos varētu lietot tur, kur par zāļvielu mērķi ir izvirzīta hCA II, piemēram, antiglaukomas līdzekļu izveidē.
2. *N*-Alkilsaharīniem un to hidrolīzes produktiem ir izteikta selektivitāte uz hCA IX un hCA XII.
3. Aromātisko sulfonamīdu rindā atsevišķiem savienojumiem (īpaši tiofēna ciklu saturošajiem) ir raksturīga neliela selektivitāte uz hCA IX.
4. Aziridīna atvasinājumiem ar arilaizvietotāju pie karbamoilgrupas *N* atoma ir novērojams augstāks citotoksiskais efekts, salīdzinot ar pārējiem atvasinājumiem, taču izteiktas citotoksicitātes atšķirības, ar dažiem izņēmumiem, nav novērojamas.
5. Aziridīna atvasinājumiem piemīt TrxR inhibēšanas aktivitāte, taču struktūras – aktivitātes likumsakarības pagaidām ir grūti formulējamas. Daži aziridīna atvasinājumi uzrādīja TrxR aktivēšanu.

DOCTORAL THESIS PROPOSED TO RIGA TECHNICAL UNIVERSITY FOR THE PROMOTION TO THE SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR OF CHEMICAL SCIENCES

To be granted the scientific degree of Doctor of Chemical Sciences, the present Doctoral Thesis has been submitted for the defence at the open meeting of RTU Promotion Council on January 11, 2018, at the Faculty of Material Science and Applied Chemistry of Riga Technical University, 3 Paula Valdena Street, room 272.

OFFICIAL REVIEWERS

Professor Dr. chem. Māris Turks
Riga Technical University

Principal Scientist Dr. chem. Aiva Plotniece
Latvian Institute of Organic Synthesis

Professor Dr. habil. chem. Raimonds Valters
Latvian Academy of Sciences

DECLARATION OF ACADEMIC INTEGRITY

I hereby declare that the Doctoral Thesis submitted for the review to Riga Technical University for the promotion to the scientific degree of Doctor of Chemical Sciences is my own. I confirm that this Doctoral Thesis had not been submitted to any other university for the promotion to a scientific degree.

Jekaterīna Ivanova (Signature)

Date:

The Doctoral Thesis has been written in Latvian. It consists of Introduction, literature review, result analysis, experimental part, conclusions, 64 figures, 14 tables, 1 appendix. The total number of pages is 121. The Bibliography contains 89 titles.

GENERAL OVERVIEW OF THE THESIS

Introduction

According to the information of the Centre for Disease Prevention and Control of Latvia oncological diseases are the second major cause of death in Latvia, the first being cardiovascular diseases. In Latvia the number of oncological patients has increased from 49 272 in 2000 to 73 983 in 2016. According to the statistics in year 2016, 5895 people in Latvia died of malignant tumor [1].

There are several approaches for the treatment of cancer. In this thesis we focused on two of them.

The first approach is the development of the inhibitors of carbonic anhydrases (CA).

Two isoforms of zinc containing enzyme carbonic anhydrase (CA IX and CA XII) are overexpressed in hypoxic tumors thereof CA IX and XII are defined as drug targets for the treatment of hypoxic tumors. It is necessary to achieve a selective inhibition of CA IX and XII otherwise severe side effects may appear.

At the moment there are no CA inhibitors used in clinics, however Phase I of clinical trials for the compound SLC-0111 (Fig. 1) has been completed [2, 3] and it is being prepared for the Phase II of clinical trials. The main drawback of SLC-0111 is relatively low CA IX inhibitory selectivity in comparison with CA II (*off-target*). That can cause severe side effects so it is still necessary to expand the range of the inhibitors of CA IX and XII and to develop selective inhibitors of these isoforms.

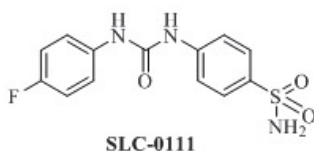


Fig. 1. The structure of CA inhibitor SLC-0111.

The second part of the thesis is devoted to the synthesis of the inhibitors of thioredoxin reductase (TrxR).

Thioredoxin reductase plays an important role in all biochemical processes where thioredoxin is involved, for example, the reduction of ribonucleotides to deoxyribonucleotides, neutralization of oxidants and reductants, etc. Thioredoxin reductase is very important in various physiological and pathological processes (apoptosis, cancer, chronic inflammation, autoimmune

diseases, neurodegenerative diseases) [4]. TrxR is often overexpressed in the case of cancer so TrxR1 is defined as drug target in cancer therapy [5].

Aims and objectives

The aims of this research are:

- 1) the development of the inhibitors of carbonic anhydrases;
- 2) the development of the inhibitors of thioredoxin reductase.

To achieve the aims the following tasks are set:

- 1) the synthesis of *N*-alkyl-saccharins and *N*-alkyl-6-sulfamoylsaccharins and their hydrolysis to obtain substituted sulfamoylbenzoic acids and to determine CA inhibition;
- 2) the synthesis of aromatic sulfonamides and the determination of CA inhibition;
- 3) the synthesis of the derivatives of Leakadin with the substituent in the aziridine ring as well as at the amido group nitrogen, the determination of TrxR inhibitory activity and anticancer activity.

Scientific novelty and main results

A series of *N*-alkylsaccharins and *N*-alkyl-6-sulfamoylsaccharins was synthesized and hydrolyzed to obtain substituted sulfamoylbenzoic acids. hCA I, II, IX and XII inhibitory activity for all the synthesized products was determined. The hydrolyzed products of 6-sulfamoylsaccharin show better inhibitory activity of tumor-associated transmembrane isoform hCA IX than their cyclic analogues. Cyclic alkyl derivatives of 6-sulfamoylsaccharin are stronger hCA XII inhibitors than their open forms.

Saccharin derivatives (cyclic and hydrolyzed) are selective hCA IX and XII inhibitors; they do not inhibit hCA I and II (*off-targets*).

MAIN RESULTS OF THE THESIS

1. Synthesis and hydrolysis of the derivatives of 2-substituted 6-sulfamoylsaccharin, and determination of CA inhibitory activity

In collaboration with Latvian Biomedical Research and Study Centre, we have performed co-crystallization of 6-sulfamoylsaccharin (**1**) (Fig. 2) and hCA II and obtained an X-ray, which proved that only primary sulfonamide interacts with the enzyme metal ion [6].

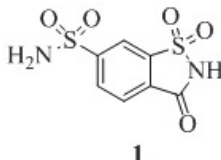


Fig. 2. 6-Sulfamoylsaccharin.

Compounds **2a–2c** (Fig. 3) were synthesized while working on Bachelor thesis [7]. After the co-crystallization of **2a–2c** with hCA II, we noticed that the isothiazole ring of saccharin was opened and we obtained co-crystals of hCA II and **3a–3c** (Fig. 4).

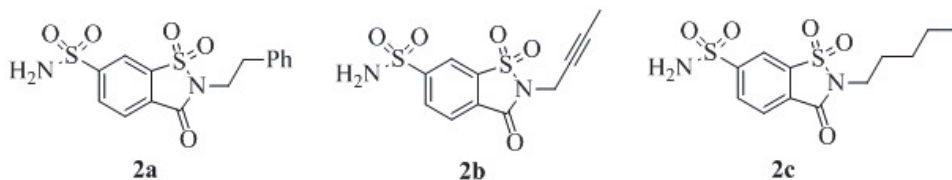


Fig 3. Alkylated derivatives of 6-sulfamoylsaccharin.

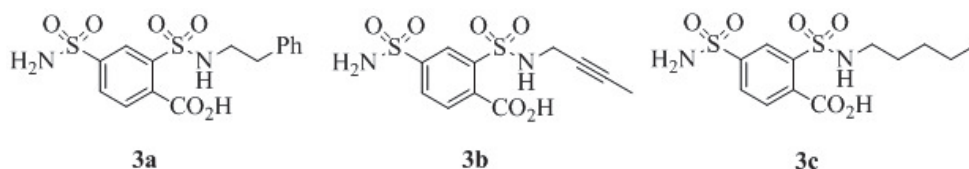


Fig. 4. Hydrolyzed forms of *N*-alkyl-6-sulfamoylsaccharins.

The isothiazole ring opening occurs most probably by alkaline hydrolysis due to the relatively high pH (~9.0) in the crystallization buffer and the enzyme itself is not involved in hydrolysis (CA does not possess peptidase activity). X-ray structures of hCA II and **3a–3c** are shown in Fig. 5 [8].

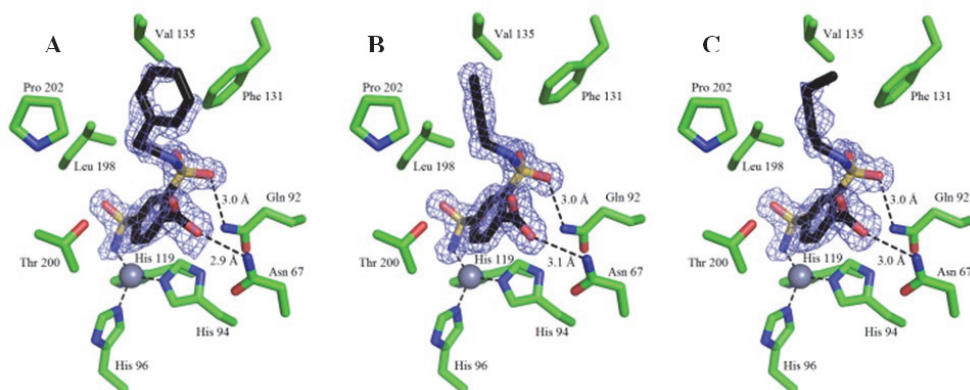
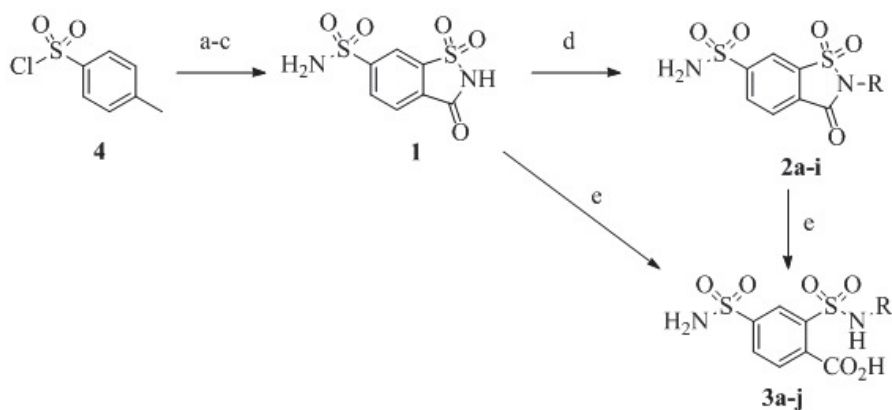


Fig. 5. A: X-ray of hCA II and **3a**; B: X-ray of hCA II and **3b**; C: X-ray of hCA II and **3c** [8].

6-Sulfamoylsaccharin was synthesized from tosyl chloride **4**, then alkylated and hydrolyzed (Fig. 6).



a) ClSO_3H ; b) NH_4OH ; c) H_5IO_6 , CrO_3 , MeCN ; d) RBr , K_2CO_3 ; e) NaOH , $\text{THF/MeOH/H}_2\text{O}$

Fig. 6. Synthesis of the derivatives of 6-sulfamoylsaccharin.

Against the cytosolic isoform hCA I inhibition (K_i) the activity range of substituted compounds was between 2.6 and 451 nM (Table 1). Only compound **3j** showed low hCA I inhibitory activity. Compounds **1**, **2d**, **3h** had a comparable inhibition profile to that of CA inhibitor acetazolamide (AAZ). Cyclic compounds **2b** and **2h** were 27 and 43 times, respectively, more active than the hydrolyzed ones (**3b** and **3h**). The cyclic forms of saccharin derivatives were more active than the open ones, except pairs **2d/3d** and **2i/3i**.

Almost all compounds (except **5**) showed higher hCA II inhibitory activity ($K_i = 0.2\text{--}8.4$ nM) than anti-glaucoma drug acetazolamide (AAZ) ($K_i = 12$ nM). In this case cyclic forms are slightly

more active than the open ones, however this difference is not as significant as in the case of hCA I. We also noticed that an increase of the aliphatic chain from two to four carbons led to the increase of hCA II inhibitory activity but a further increase to five carbons was detrimental for the inhibitory activity. Unsaturated or aryl(alkyl) chains (benzyl, 4-substituted benzyl, phenethyl) led again to highly effective CA inhibitors.

An opposite inhibition pattern was observed in the case of the tumor-associated transmembrane isoform hCA IX. Even though none of the compounds was superior to AAZ, the inhibitory activity increased going from the closed to the open forms (compounds **3a**, **3d**, **3i** and **3j** with $K_i = 42.1$ – 92.9 nM).

hCA XII is better inhibited by saccharin closed forms. Several synthesized compounds showed inhibitory activity ($K_i = 5.2$ – 14.3 nM) that is in the same range as AAZ inhibitory activity ($K_i = 5.7$ nM).

Table 1. Inhibitory activity of 6-sulfamoylsaccharin derivatives **1**, **2a-i**, **3a-j**

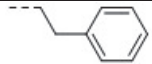
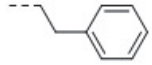
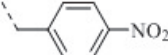
Compound	R	K_i , nM			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
1	H	251	8.4	337	52.9
2a		9.1	0.4	378	6.7
2b		4.6	0.4	271	9.5
2c	<i>n</i> -pentyl	4.3	3.5	380	5.2
2d	Et	257	1.0	452	7.2
2e	<i>n</i> -Pr	49	0.6	278	5.9
2f	<i>n</i> -Bu	4.8	0.6	51.2	5.7
2g	Bn	2.6	0.4	51.8	5.8
2h		4.9	0.2	52.9	7.9
2i		57.8	0.8	321	14.3
3a		59.0	2.8	71.6	48.6
3b		125	0.7	78.1	67.8
3c	<i>n</i> -pentyl	29.9	6.0	333	68.3
3d	Et	66.2	1.7	92.8	77.7
3e	<i>n</i> -Pr	81.4	0.2	89.5	63.6

Table 1 continued. Inhibitory activity of 6-sulfamoylsaccharin derivatives **1**, **2a-i**, **3a-j**.

Compound	R	<i>K_i</i> , nM			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
3f	<i>n</i> -Bu	41.4	1.1	130	58.7
3g	Bn	64.0	1.5	67.4	50.5
3h		213	2.2	73.6	195
3i		38.7	0.3	70.5	27.0
3j	H	451	31.7	42.1	63.3
AAZ	—	250	12	25	5.7

The most interesting finding of this research is the fact that drug design has been guided by the crystallographic work, which evidenced a hydrolytic process that was taking place during the crystallization experiments. Unexpectedly, the hydrolysis afforded compounds possessing a free COOH moiety in addition to the primary and secondary sulfamoyl moieties. Compounds **3a-i** are selective hCA II inhibitors and this finding can be important in searching for potential anti-glaucoma agents as CA II is a drug target for glaucoma treatment.

2. Synthesis, hydrolysis and CA inhibitory activity of 2-substituted derivatives of saccharin

In order to expand the range of CA inhibitors among the saccharin (**5**) derivatives, we prepared a series of *N*-substituted saccharins **6a-i** and hydrolyzed some of them to obtain substituted sulfamoylbenzoic acids **7a-f** (Fig. 7).

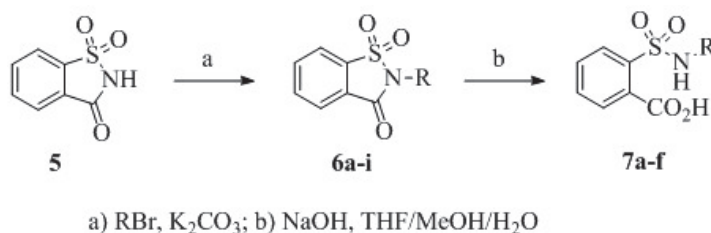


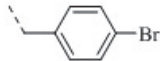
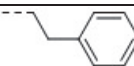
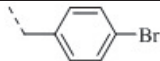
Fig. 7. Synthesis of saccharin derivatives.

The cytosolic isoforms hCA I and II are not inhibited by the saccharin derivatives and sulfamoylbenzoic acids (Table 2). That has already been observed for other saccharin derivatives investigated earlier [6, 9–14]. This feature is important in searching for selective CA inhibitors when it is necessary to obtain compounds that would inhibit only tumor-associated isoforms hCA IX and XII.

hCA IX was quite efficiently inhibited by compounds **6a**, **6b** and **6i** that contain aromatic substituents. Interestingly, 4-bromobenzyl saccharin derivative **6b** is a four times better hCA IX inhibitor than benzyl derivative (**6a**) but if nitro group instead of bromine is present in the molecule the activity decreases (compound **6c** is a 53 times weaker inhibitor than compound **6b**). Other saccharin derivatives are medium-weak hCA IX inhibitors ($K_i = 103\text{--}481$ nM), irrespective of the nature of the substituent. The open saccharins showed rather modest activity as hCA IX inhibitors.

hCA XII was inhibited better ($K_i = 3.9\text{--}245$ nM) than hCA IX. All the synthesized compounds are better inhibitors than saccharin. The best hCA XII inhibitor is compound **6b** ($K_i = 4.3$ nM) with 4-bromobenzyl group. The weakest CA inhibitors are those with aliphatic substituents **7c** and **7d**.

Table 2. CA inhibitory activity of saccharin derivatives **6a-i** and **7a-i**

Compound	R	K_i , nM			
		hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
Saccharin (5)	—	18540	5950	103	633
6a	Bn	> 10000	> 10000	89.2	18.7
6b		> 10000	> 10000	22.1	4.3
6c		324	> 10000	1169	29.0
6d		> 10000	> 10000	236	45.1
6e		> 10000	> 10000	209	37.9
6f		> 10000	> 10000	164	36.5
6g		> 10000	> 10000	102	34.0
6h		> 10000	> 10000	563	43.7
6i		> 10000	> 10000	76.1	10.4
7a	Bn	> 10000	> 10000	342	125
7b		> 10000	> 10000	277	86.4
7c		> 10000	> 10000	481	245
7d		> 10000	> 10000	436	227
7e		> 10000	> 10000	392	151
7f		> 10000	> 10000	250	74.6
AAZ	—	250	12	25	5.6

3. Synthesis and CA inhibitory activity of aromatic sulfonamides

In collaboration with Latvian Biomedical Research and Study Centre the X-rays of complexes CA II – **8**, CA IX – **8** and CA IX – **9** were obtained and published (Fig. 8) [15].

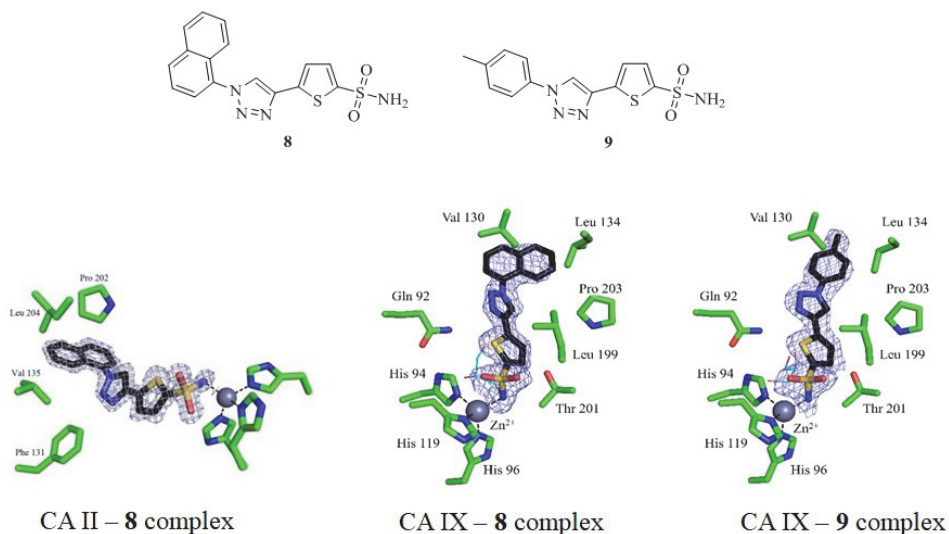


Fig. 8. Structure of compounds **8** and **9** and their co-crystals with CA II and CA IX [15].

In collaboration with Professor K. Tārs we have designed new potential CA IX selective inhibitors using a molecular docking based on the previously obtained enzyme – inhibitor X-ray complex data. We planned to synthesize a series of sulfonamides shown in Fig. 9. These inhibitors were designed as self-adapting inhibitors that can exist as various atropisomers (rotamers) and are able to adapt to the shape of active centre providing selective inhibition of target enzyme. The potential inhibitors consist of three building blocks: Ar'/Het, Ar/Het' and sulfonamide group containing (thiophene or benzene ring) moiety (Fig. 9).

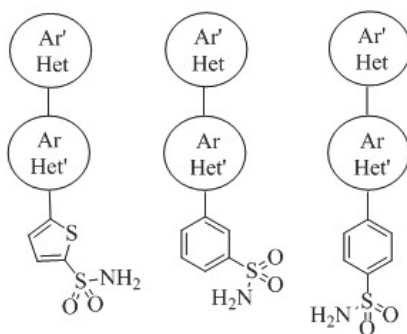


Fig. 9. CA inhibitors

General synthesis scheme of products **16** is shown in Fig. 10. Suzuki reaction between 4- or 5-bromoquinolines and pinacolborates **11** gave halides or pseudohalides **12**. Suzuki reaction between boronic acids or pinacolborates **13** and compounds **14** gave biarils **15**. Products **16** were obtained from biarils **12** or **15** in one, or more steps. Suzuki coupling was carried out using various palladium catalysts ($\text{Pd(PPh}_3)_4$, Pd(dppf)Cl_2 , Pd(OAc)_2 , $\text{Pd(PPh}_3)_2\text{Cl}_2$), bases (KOAc , K_3PO_4 , K_2CO_3) and solvents (DMF, dioxane, MeCN/MeOH).

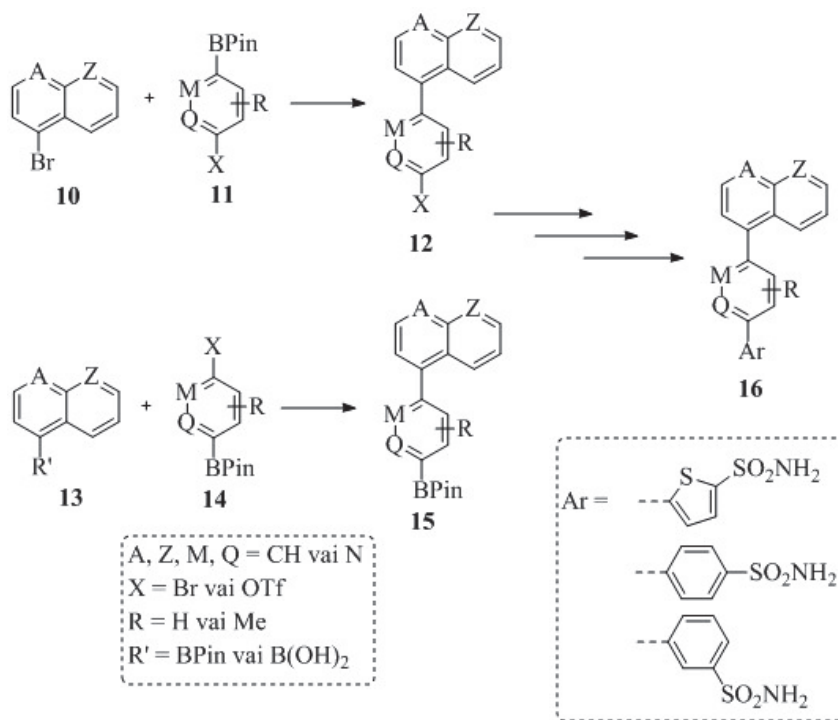


Fig. 10. Synthesis of sulfonamides **16**.

Biological activity of synthesized sulfonamides is shown in Table 3. The enzymatic assay for some compounds is still ongoing so it is quite difficult to make conclusions about structure – activity relationships at the moment, however we can see that thiophene ring containing products show better hCA I inhibitory activity. hCA II is better inhibited by the compounds with thiophene moiety as well. Compound **16d** was the best hCA IX ($\text{IC}_{50} = 6 \text{ nM}$) and hCA XII ($\text{IC}_{50} = 31 \text{ nM}$) inhibitor.

Table 3. CA inhibitory activity of compounds **16a-p**

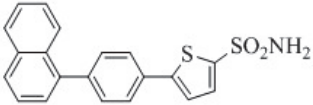
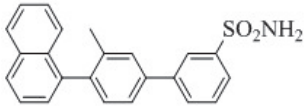
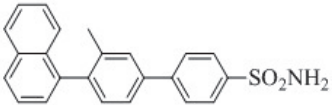
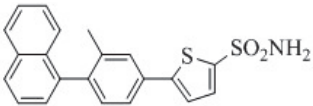
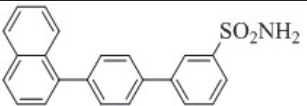
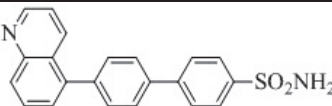
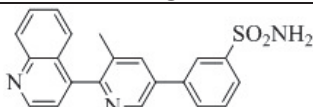
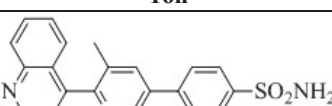
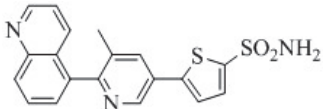
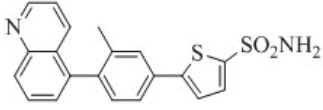
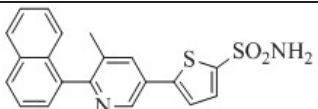
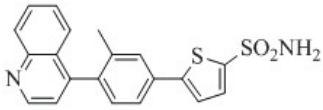
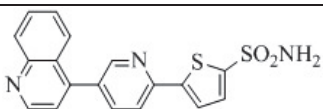
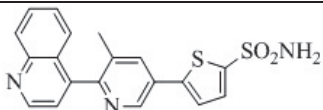
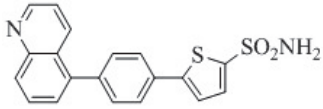
Structure	IC ₅₀ , nM			
	hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
 16a	8944	135	483	559
 16b	7638	4203	821	7599
 16c	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16d	850	41	6	31
 16e	9224	4267	8794	3408
 16f	9094	273	777	6405
 16g	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16h	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16i	Determination of CA inhibition is ongoing			

Table 3 continued. CA inhibitory activity of compounds **16a-p**

Structure	IC ₅₀ , nM			
	hCA I	hCA II	hCA IX	hCA XII
 16j	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16k	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16l	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16m	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16n	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16o	Determination of CA inhibition is ongoing			
 16p	3446	16	294	376

In Professor K. Tārs' group CA IX co-crystallization with compound **16a** was performed and CA IX – **16a** X-ray was obtained (Fig. 11).

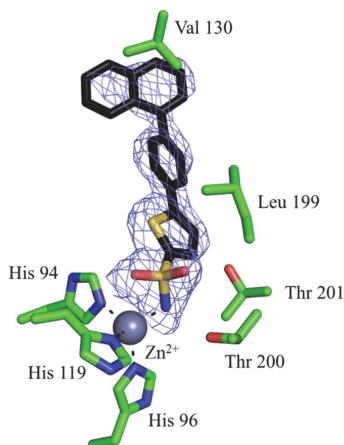
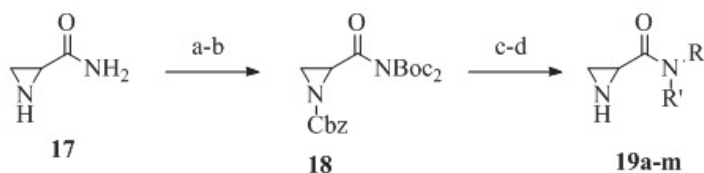


Fig. 11. **16a** – CA IX crystal structure.

4. Synthesis, TrxR inhibitory activity and anti-cancer activity of Leakadin derivatives

The second part of this PhD thesis is devoted to the synthesis of aziridine derivatives that are potential inhibitors of TrxR.

Aziridine derivatives **19a-m** were prepared from Leakadin (**17**) by protecting with Cbz and Boc groups (compound **18**) and following reactions with various amines. Cbz group was removed during the last step (Fig. 12).



a) CbzCl, NaHCO₃, H₂O, EtOAc; b) Boc₂O, DMAP, DCM;
c) HNRR', DCM; d) H₂, Pd/C, MeOH

Fig. 12. Synthesis of Leakadin derivatives **19a-m**.

The cytotoxicity of compounds **19a-m** on cancer cell lines HT-1080 (human fibrosarcoma), SHSY5Y (human neuroblastoma), MCF-7 (human breast adenocarcinoma) as well as TrxR inhibition (showed in %) is shown in Table 4.

In Table 4 we can see cytotoxicity of compounds **19a-m** on cancer cell lines HT-1080 (human fibrosarcoma), SHSY5Y (human neuroblastoma), MCF-7 (human breast adenocarcinoma), and TrxR inhibition (showed in %).

Compound **19h** does not have any cytotoxic effect on all investigated cell lines. Compound **19a** does not have any cytotoxic effect on cell lines HT-1080 and MCF-7.

Both compounds that do not have any cytotoxic effect on one or several cell lines do not have aromatic moiety. Compounds with the substituent in *para* position in phenyl ring at amide *N* have better cytotoxic effect. Compounds **19b** un **19g** with the substituents CF₃ and *t*-Bu in *para* position in benzene ring have the lowest IC₅₀ values on cell line SHSY5Y.

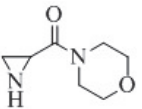
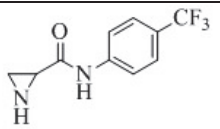
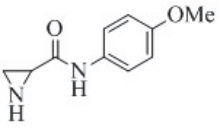
Among the benzyl substituted amides compound **19m** (with ethyl substituent in *meta* position) has the highest cytotoxicity on all three cell lines.

Interestingly, two of the synthesized compounds do not inhibit TrxR but activate it (**19a**, **19e**).

Compounds **19i**, **19k** and **19m** also possess slight activation effect. Other compounds are TrxR inhibitors (Table 4).

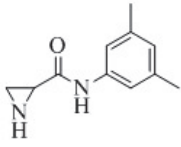
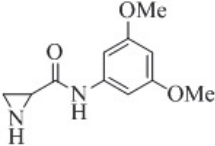
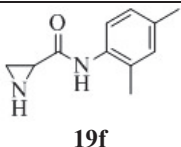
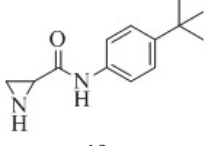
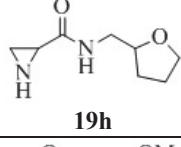
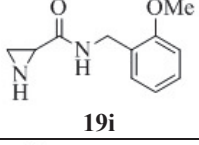
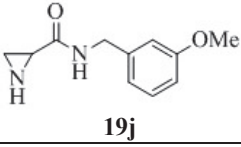
Compound **19c** possesses the highest TrxR inhibitory activity. The enzyme is inhibited by 93 %. Benzyl derivatives **19i-m** do not inhibit TrxR.

Table 4. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **19a-m**

Compound	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (c = 0.2 mM)
	HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
 19a	*	2.7	*	-13 ± 5
 19b	0.11	0.048	0.13	73 ± 6
 19c	1.1	0.86	1.2	93 ± 9

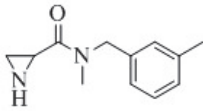
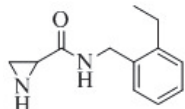
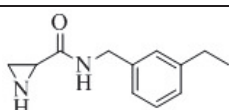
* – cytotoxic effect was not detected

Table 4 continued. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **19a-m**

Compound	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (c = 0.2 mM)
	HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
 19d	0.45	0.19	1.1	8 ± 6
 19e	1.5	0.72	1.1	-32 ± 7
 19f	2.3	1.8	1.6	69 ± 6
 19g	0.15	0.092	0.17	17 ± 6
 19h	*	*	*	4 ± 6
 19i	0.53	0.89	1.7	-5 ± 4
 19j	0.56	0.50	0.62	5 ± 3

* – cytotoxic effect was not detected

Table 4 continued. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **19a-m**.

Compound	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (c = 0.2 mM)
	HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
 19k	0.51	0.54	1.7	-3 ± 3
 19l	0.47	0.55	0.54	3 ± 4
 19m	0.11	0.13	0.11	-5 ± 1

* – cytotoxic effect was not detected

The reactions of Leakadin (**17**) with corresponding acyl chlorides gave a series of compounds **20a-i** (Fig. 13).

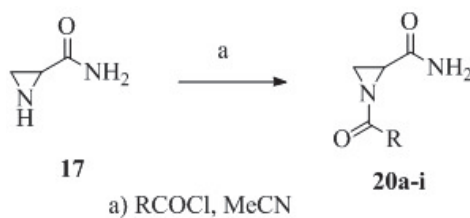


Fig. 13. Acylation of Leakadin.

Compounds with aromatic moiety (**20f-i**) possess the highest cytotoxicity among *N*-acylated aziridines (Table 5). IC₅₀ of these compounds on cell line HT-1080 is 0.17–0.25 mM, on MCF-7 it is 0.18–0.77, and on SHSY5Y it is 0.015–0.78 mM (compounds **20f**, **20g**, **20i**). If we compare the cytotoxicity of compounds **20e** (furyl substituted) and **20f** (thiophene-2-yl substituted) it is obvious that the compound containing thiophene ring has higher cytotoxicity on all cell lines. Compounds **20a**, **20c** and **20d** do not show any cytotoxic effect.

All compounds except **20d** and **20g** are TrxR inhibitors. Compounds **20a** and **20h** inhibit TrxR for more than 70 %. Compound **20h** inhibits TrxR even by 100 %.

Table 5. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **20a-i**

Compound	R	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (c = 0.2 mM)
		HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
20a	Me	3.2	3.1	*	89 ± 10
20b	Ph	1.4	1.2	1.4	61 ± 7
20c	<i>i</i> -Pr	5.6	2.6	*	49 ± 7
20d	<i>t</i> -Bu	4.8	2.7	*	-36 ± 6
20e		1.2	1.3	1.1	28 ± 5
20f		0.23	0.78	0.71	86 ± 11
20g		0.25	0.015	0.18	-18 ± 6
20h		0.23	1.3	0.53	100 ± 0
20i		0.17	0.17	0.77	58 ± 7

* – cytotoxic effect was not detected

Reactions of Leakadin (**17**) with isocyanates gave compounds **21a-e** (Fig. 14).

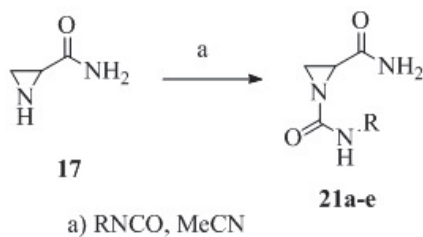
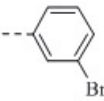
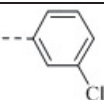


Fig. 14. Reactions of Leakadin with isocyanates.

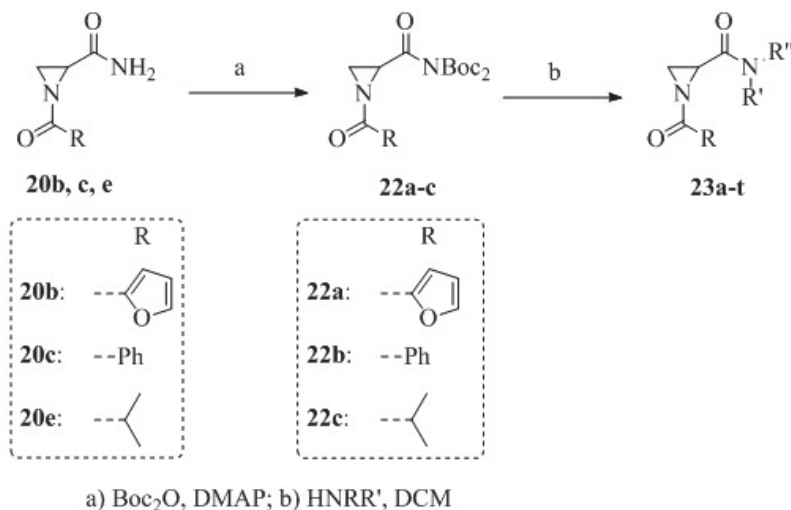
All compounds **21a-e** are TrxR inhibitors, the best one is **21e** (Table 6). Two compounds (**21a** and **21d**) are very weak TrxR inhibitors.

Table 6. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **21a-e**

Compound	R	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (<i>c</i> = 0.2 mM)
		HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
21a	Pr	0.25	*	*	7 ± 5
21b	<i>t</i> -Bu	0.56	0.60	2.7	18 ± 4
21c	Ph	0.26	0.58	0.79	15 ± 6
21d		0.29	0.15	0.85	7 ± 9
21e		0.10	0.046	0.31	56 ± 8

* – cytotoxic effect was not detected

A series of compounds **23a-t** (Fig. 15) was synthesized from *N*-acyl substituted aziridines **20b,c,e** that were protected with Boc group (compounds **22a-c**). Compounds **23a-t** have substituents at both aziridine and amide *N*.

Fig. 15. Synthesis of Leakadin derivatives **23a-t**.

N-*i*-Pr substituted aziridines **23m-r** show the lowest cytotoxicity, especially on cell line HT-1080 (Table 7), however, the cytotoxicities of phenyl and 2-furyl substituted aziridines on cell line HT-1080 are in the same range.

Most of the compounds shown in Table 7 inhibit TrxR, however **23g**, **23i**, **23k** and **23m** are TrxR activators. Aziridine derivatives **23d**, **23l** and **23r** have high TrxR inhibitory activity (76–91 %). Compound **23o** inhibits TrxR by 100 %.

Table 7. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **23a–t**

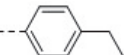
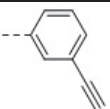
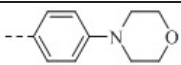
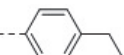
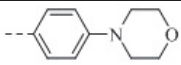
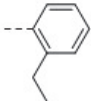
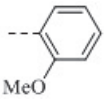
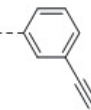
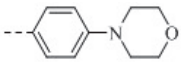
Compound	R	R'	R''	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (c = 0.2 mM)
				HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
23a	Ph	H	Ph	0.45	0.65	1.35	33 ± 3
23b		H		0.17	0.099	0.12	22 ± 4
23c		H		0.83	1.19	1.33	25 ± 6
23d		H		0.46	0.57	1.42	84 ± 5
23e		Me	Ph	0.15	0.56	1.27	19 ± 7
23f		H		0.12	0.09	0.84	50 ± 6
23g		H		0.40	0.47	1.23	−69 ± 11
23h	2-furyl-	H	Ph	0.41	0.58	1.45	50 ± 2
23i		H		0.13	0.091	0.13	−89 ± 9
23j		H		0.53	1.27	1.30	65 ± 4
23k		Me	Ph	0.21	0.51	1.34	−37 ± 7
23l		H		0.073	0.45	1.08	91 ± 4

Table 7 continued. Cytotoxicity and TrxR inhibition of aziridines **23a-t**

Compound	R	R'	R''	IC ₅₀ , mM			TrxR inhibition, % (c = 0.2 mM)
				HT-1080	SHSY5Y	MCF-7	
23m	<i>i</i> -Pr	H	Ph	1.20	1.71	1.60	-56 ± 9
23n		H		1.10	1.59	1.46	55 ± 4
23o		H		1.23	1.62	1.49	100 ± 0
23p		H		1.69	1.70	1.73	63 ± 8
23r		Me	Ph	1.09	1.53	1.44	76 ± 6
23s		H		0.59	0.70	1.47	30 ± 7
23t		H		0.67	1.12	1.90	50 ± 5

CONCLUSIONS

1. *N*-Alkylated derivatives of 6-sulfamoylsaccharin and their hydrolyzed forms (derivatives of disulfamoylbenzoic acids) are not selective hCA IX/hCA XII inhibitors, but they are selective CA II inhibitors and can be used as drug targets for hCA II, for example, in searching for novel antiglaucoma agents.
2. *N*-Alkylated saccharins and their hydrolyzed forms are selective hCA IX and hCA XII inhibitors.
3. Some aromatic sulfonamides (especially those containing thiophene ring) express moderate inhibition selectivity towards hCA IX.
4. Aziridine derivatives with aryl substituent at *N* atom in carbamoyl group express higher cytotoxicity compared with other derivatives, however, for most compounds the difference in cytotoxic effect is minimal, except some derivatives.
5. Aziridine derivatives express TrxR inhibitory activity, however, structure – activity relationships currently are difficult to define. Some of the aziridine derivatives showed TrxR activation effect.

PUBLIKĀCIJAS / PUBLICATIONS

Zinātniskās publikācijas / Scientific publications:

1. Alterio, V.; Tanc, M.; **Ivanova, J.**; Zalubovskis, R.; Vozny, I.; Monti, S. M.; Di Fiore, A.; De Simone, G.; Supuran, C. T. X-ray crystallographic and kinetic investigations of 6-sulfamoyl-saccharin as a carbonic anhydrase inhibitor. *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, *13* (13), 4064–4069.
2. **Ivanova, J.**; Leitans, J.; Tanc, M.; Kazaks, A.; Zalubovskis, R.; Supuran, C. T.; Tars, K. X-Ray crystallography-promoted drug design of carbonic anhydrase inhibitors. *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 7108–7111.
3. **Ivanova, J.**; Žalubovskis, R. Derivatives of 2-aziridinyl ketones and aziridinyl-2-carboxylates (microreview). *Chem. Heterocycl. Comp. (Engl. Ed.)*, **2016**, *52* (8), 535–537.
4. **Ivanova, J.**; Carta, F.; Vullo, D.; Leitans, J.; Kazaks, A.; Tars, K.; Žalubovskis, R.; Supuran, C. T. *N*-Substituted and ring opened saccharin derivatives selectively inhibit transmembrane, tumor-associated carbonic anhydrases IX and XII. *Bioorg. Med. Chem.*, **2017**, *25* (13), 3583–3589.

Patenti / Patents:

1. Žalubovskis, R., **Ivanova, J.**, Domračeva, I., Kaņepe-Lapsa, I., Kūms I. Aziridīn-2-karboksamīda atvasinājumi kā tioredoksīnreduktāzes inhibitori, to sintēze un pretvēža un pretmetastatiskā iedarbība. LV patenta pieteikums P-17-50 (19/07/2017).

Darba rezultāti prezentēti šādās konferencēs / Results of the thesis were presented at the following conferences:

1. **Ivanova J.**; Žalubovskis R. Synthesis of unsymmetrically substituted disulfamoylbenzoic acid derivatives. In *Program and Abstracts, International Conference on Organic Synthesis Balticum Organicum Syntheticum (BOS-2014)*. 6–9 July 2014, Vilnius, Lithuania. p. 69. PO025.
2. **Ivanova J.**; Tanç M.; Supuran C. T.; Žalubovskis R. Saccharin derivatives as potential inhibitors of carbonic anhydrases. In *Book of Abstracts, 10th International Carbonic Anhydrase Conference*. 20–22 April 2015, Maastricht, The Netherlands. p. 54. P7.

3. **Ivanova J.**; Domračeva, I.; Žalubovskis R. Synthesis and biological evaluation of *N*-unsubstituted aziridine derivatives. In *Book of abstracts, XVI International Conference in Bioorganic Chemistry (Bioheterocycles 2015)*. 8–11 June 2015, Metz, France. p. 81. P017.
4. **Ivanova J.**; Domračeva, I.; Žalubovskis R. Derivatives of aziridine-2-carboxamide and their biological evaluation. In *Book of abstracts, Spanish-Italian Medicinal Chemistry Congress (SIMCC 2015)*. 12–15 July 2015, Barcelona, Spain. p. 73. P05.
5. Žalubovskis R.; Grandāne A.; **Ivanova J.**; Domračeva, I.; Tārs K.; Supuran C. T. Inhibitors of carbonic anhydrases – challenges of design and synthesis. In *Abstract Book, Drug Discovery Conference*. 27–29 August 2015, Riga, Latvia. p. 33. OC13.
6. **Ivanova J.**; Tanç M.; Supuran C. T.; Žalubovskis R. Saccharin derivatives and sulfamoylbenzoic acids as carbonic anhydrase inhibitors. In *Abstract Book, Drug Discovery Conference*. 27–29 August 2015, Riga, Latvia. p. 105. PP23.
7. Žalubovskis, R.; Grandāne, A.; **Ivanova, J.**; Balode, A.; Pustenko, A.; Domračeva, I.; Tārs, K.; Leitāns, J. Challenging design and synthesis of inhibitors of carbonic anhydrases. In *Program and Abstracts, International Conference on Organic Synthesis Balticum Organicum Syntheticum (BOS-2016)*. 3–6 July 2016, Riga, Latvia. p. 178. PO141.
8. Žalubovskis, R.; **Ivanova, J.**; Pustenko, A.; Grandāne, A.; Domračeva, I.; Tārs K.; Supuran C. T. Inhibitors of Carbonic Anhydrases – challenges of design and synthesis. In *Abstracts, 3rd Satellite Meeting on Carbonic Anhydrase „New trends in Carbonic Anhydrases Research”*. 24–27 May 2017, Montecatini Terme, Italy. p. 81. P38.
9. **Ivanova J.**; Žalubovskis R. Synthesis of aromatic sulfonamides as inhibitors of carbonic anhydrases. *20th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2017)*. 2–6 July 2017, Cologne, Germany. SY087.

LITERATŪRAS SARAKSTS / REFERENCES

1. <https://www.spkc.gov.lv/lv/statistika-un-petijumi/statistika/veselibas-aprupes-statistika1/get/nid/14>
2. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02215850>
3. Pacchiano, F.; Carta, F.; McDonald, P. C. *et al.* Ureido-substituted benzenesulfonamides potentially inhibit Carbonic Anhydrase IX and show antimetastatic activity in a model of breast cancer metastasis. *J. Med. Chem.*, **2011**, 54 (6), 1896–1902.
4. Saccoccia, F.; Angelucci, F.; Boumis, G. *et al.* Thioredoxin Reductase and its Inhibitors. *Curr. Protein Pept. Sc.*, **2014**, 15 (6), 621–646.
5. Hedström, E.; Eriksson, S.; Zawacka-Pankau, J. *et al.* p53-Dependent inhibition of TrxR1 contributes to the tumor-specific induction of apoptosis by RITA. *Cell Cycle*, **2009**, 8 (21), 3584–3591.
6. Alterio, V.; Tanc, M.; Ivanova, J. *et al.* X-ray crystallographic and kinetic investigations of 6-sulfamoyl-saccharin as a carbonic anhydrase inhibitor. *Org. Biomol. Chem.*, **2015**, 13 (13), 4064–4069.
7. Ivanova, J. Aizvietota saharīna sintēze un ķīmisko īpašību pētīšana. Bakalaura darbs (RTU, 2010).
8. Ivanova, J.; Leitans, J.; Tanc, M. *et al.* X-Ray crystallography-promoted drug design of carbonic anhydrase inhibitors. *Chem. Commun.*, **2015**, 51 (33), 7108–7111.
9. Carradori, S.; Secci, D.; De Monte, S. *et al.* A novel library of saccharin and acesulfame derivatives as potent and selective inhibitors of carbonic anhydrase IX and XII isoforms. *Bioorg. Med. Chem.*, **2016**, 24 (5), 1095–1105.
10. D'Ascenzio, M.; Guglielmi, P.; Carradori, S. *et al.* Open saccharin-based secondary sulfonamides as potent and selective inhibitors of cancer-related carbonic anhydrase IX and XII isoforms. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.*, **2017**, 32 (1), 51–59.
11. Mahon, B. P.; Hendon, a. M.; Driscoll, J. M. *et al.* Saccharin: A lead compound for structure-based drug design of carbonic anhydrase IX inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, **2015**, 23 (4), 849–854.
12. Moeker, J.; Peat, T. S.; Bornaghi, L. F. *et al.* Cyclic secondary sulfonamides: unusually good inhibitors of cancer-related carbonic anhydrase enzymes. *J. Med. Chem.*, **2014**, 57 (8), 3522–3531.

13. D'Ascenzio, M.; Carradori, S.; De Monte, C. *et al.* Design, synthesis and evaluation of *N*-substituted saccharin derivatives as selective inhibitors of tumor-associated carbonic anhydrase XII. *Bioorg. Med. Chem.*, **2014**, 22 (6), 1821–1831.
14. Coviello, V.; Marchi, B.; Sartini, S. *et al.* 1,2-Benzisothiazole derivatives bearing 4-, 5-, or 6-alkyl/arylcarboxamide moieties inhibit carbonic anhydrase isoform IX (CA IX) and cell proliferation under hypoxic conditions. *J. Med. Chem.*, **2016**, 59 (13), 6547–6552.
15. Leitans, J.; Sprudza, A.; Tanc, M. *et al.* 5-Substituted-(1,2,3-triazol-4-yl)thiophene-2-sulfonamides strongly inhibit human carbonic anhydrases I, II, IX and XII: solution and X-ray crystallographic studies. *Bioorg. Med. Chem.*, **2013**, 21 (17), 5130–5138.