

УДК 547.789.18+547.556.7

Синтез і протипухлинна активність 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетатів

Б.Д. Грищук^{1*}, Р.В. Симчак¹, В.С. Барановський¹,
В.М. Яцюк¹, В.С. Броварець²

¹ Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна

² Інститут біоорганічної хімії і нафтохімії НАН України
вул. Мурманська, 1, Київ, 02094, Україна

Резюме. Циклізацією 3-арил-2-тіоціанатопропанамідів одержано 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетати і досліджено їх протипухлинну активність на 60 лініях ракових клітин. За результатами скринінгу встановлено помірний вплив синтезованих сполук на лінії раку нирок A498 та раку ЦНС SNB-75.

Ключові слова: 2-амінотіазол, аніонарилювання, 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетати, протипухлинна активність.

Вступ. Реакція аніонарилювання ненасичених сполук є зручним одностадійним методом синтезу арилалкільних галогенідів, тіо- й ізо-тіоціанатів, N,N-діалкілдитіокарбаматів, O-алкілдитіокарбонатів, O,O-діалкілдитіофосфатів [1-3], які широко використовують як ациклічні попередники сульфуро- і нітрогеновмісних гетероциклів [4]. Перспективним напрямом синтетичного використання продуктів аніонарилювання похідних α,β -ненасичених кислот є одержання на їх основі 5-арилзаміщених тіазолів [5-9]. Зокрема, циклізації α -тіоціанатомідів відбуваються з утворенням 5-арилзаміщених 2-амінотіазол-4(5H)-онів [10].

2-Амінотіазоли та їх похідні становлять інтерес як субстанції для створення лікарських засобів, які вирізняються високою біологічною активністю, безпечністю і низькою токсичністю. Проведені останнім часом дослідження по-

казали, що сполуки цього класу виявляють бронхолітичну, протизапальну, анальгетичну, антиоксидантну, противірусну, антибактеріальну, протитуберкульозну, гепатопротекторну, антипроліферативну, нейропротекторну та інші види активності, а отже, характеризуються широким спектром терапевтичної дії [11-15].

Амінотіазольний фрагмент входить до складу молекул багатьох фармацевтичних препаратів, зокрема сульфамідних («Фталазол», «Норсульфазол») і цефалоспоринових антибіотиків III покоління («Цефотаксим», «Цефтазидим», «Цефтриаксон», «Цефтибутен» та ін.) [16].

Також похідні 2-амінотіазолу — (2-аміно-N-(піридин-2-іл)тіазол і 2-аміно-N-(піридин-4-іл)-бензотіазол) — виявилися ефективними інгібіторами ряду специфічних кіназ, що розкриває перспективи їх використання як протизапальних і протиалергічних засобів [17, 18].

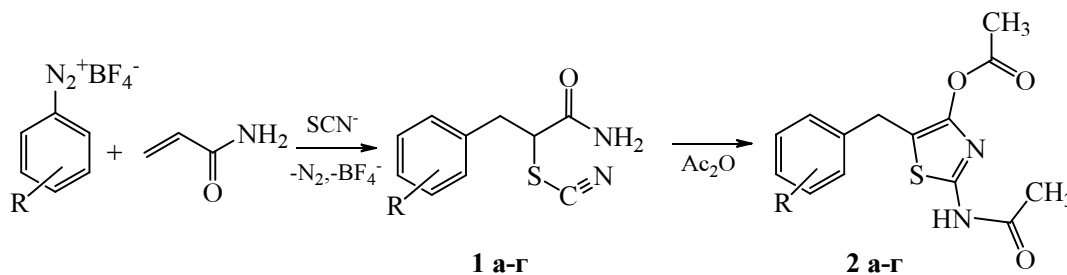
Нещодавно було підтверджено ефективність використання N-(2-хлоро-6-метилфеніл)-2-[[6-[4-(2-гідроксиетил)-1-піперазиніл]-

* Corresponding author.

Tel.: +380352-435901

E-mail address: baranovskyj@chem-bio.com.ua

Синтез сполук 2а-г



1, 2: R= 4-Me (а), 2-MeO (б), 4-MeO (в), 2,5-Cl₂ (г)

2-метил-4-піримідиніл]аміно]-5-тіазолкарбоксаміду (Дазатиніб, BMS-354825) як засобу для лікування хронічного мієлолейкозу, гострого лімфобластного лейкозу за наявності філадельфійської хромосоми (Ph⁺) та метастатичної меланоми. Цей протипухлинний засіб має подвійну дію інгібування активності BCR-ABL- і Src-тирозинкіназ [19, 20].

Факти, наведені вище, вказують на перспективність пошуку протипухлинних засобів серед нових похідних 2-амінотіазолу, які можна одержати на основі продуктів аніонарилювання [21].

Результати й обговорення. 2-Ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетати 2а-г нами одержано циклізацією 3-арил-2-тіоціанатопропанамідів 1а-г в оцтовому ангідриді. Синтез сполук 2а-г проводили за схемою 1.

Циклізація 3-арил-2-тіоціанатопропанамідів 1а-г супроводжується додатковим ацилюванням у положення 4 тіазольного циклу, яке стає можливим унаслідок міграції атома гідрогену з положення 5 за механізмом кетоенольної таутомерії. Саме тому продукти циклізації 2а-г містять два ацильних фрагменти.

Структура одержаних похідних тіазолу 2а-г узгоджується з даними ІЧ-спектрів. При переході від тіоціанатів 1а-г до ацетильних похідних 2а-г зникають характеристичні смуги вбирання тіоціанатної (2156-2148 см⁻¹) та амідної (3392-3380 см⁻¹) груп, що засвідчує безпосередню їх участь у формуванні тіазольного циклу. Натомість замість однієї смуги карбонільної групи (1680-1672 см⁻¹), характерної для тіоціанатоамідів 1а-г, проявляються дві смуги з максимумами при 1736-1732 і 1712-1704 см⁻¹, що є ознакою наявності в структурі сполук 2а-г

двох карбонільних груп у складі різних фрагментів.

Спектри ЯМР ¹H 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетатів 2а-г характеризуються сигналами протонів ароматичних ядер у ділянці 7,56-6,86 м.ч., протонів метиленової групи бензильного фрагмента (синглети при 4,00-3,80 м.ч.) і протонів метильних груп (два синглети при 2,27-2,24 та 2,10-2,08 м.ч.). Протони NH-груп ацетамідних фрагментів зміщені в ділянку слабого поля і резонують у вигляді синглетів при 12,08-12,00 м.ч.

Протипухлинну активність синтезованих сполук 2а-г вивчали в рамках міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США. Скринінгові дослідження проводили *in vitro* на 60 лініях ракових клітин, що охоплюють практично весь спектр онкологічних захворювань людини (лінії раку легень, нирок, ЦНС, яєчників, простати, молочної залози, епітеліального раку, а також лейкемії та меланоми), при дії речовини в концентрації 1·10⁻⁵ М. У результаті досліджень визначали відсоток росту (GI) клітин ліній раку порівняно з контролем (контроль — 100%) [22-26].

Одержані результати вказують на незначну протипухлинну активність 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетатів 2а-г відносно випробуваних ліній ракових клітин (табл. 1). Найвищі значення GI спостерігаються для ліній A498 раку нирок (GI=66,73% для сполуки 2а) і раку ЦНС (GI=67,13% для 2г).

Слід зазначити, що сполуки 2а та 2г також виявили найвищу середню мітотичну активність, яка складає 98,44 і 95,89% відповідно. Ця закономірність вказує, що введення певних ароматичних фрагментів у положення 5 тіа-

зольного циклу сприяє незначному посиленню цитотоксичної дії.

Протимітотична активність до клітин раку легенів у певній мірі виражена для всіх досліджених речовин і знаходиться в діапазоні 76,27-85,34 % (найбільш чутлива лінія NCI-H522). Крім цього, сполука **2г** вибірково діє на клітини лінії HOP-92 (GI=74,13 %).

Сполука **2а** зумовлює інгібувальну дію до клітин раку нирок ліній A498 (GI=66,73 %) і ТК-10 (78,25 %). На останню лінію також діє речовина **2г** (GI=78,57 %).

Протимітотична активність незначного ступеня спостерігається для сполук **2а**, **2в** і **2г** відносно клітин лейкемії ліній MOLT-4 та HL-60(TB), а також раку передміхурової залози лінії PC-3.

Поряд із протипухлинною дією 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетати **2а-г** стимулюють ріст ракових клітин більшості ліній меланоми і раку яєчників. Максимальна цитостимулювальна дія спостерігається для сполуки **2г** на клітини раку товстого кишечника лінії COLO-205 (GI=122,95 %) та **2в** на клітини меланоми лінії SK-MEL-28 (GI=117,02 %).

Результати досліджень вказують на те, що введення метильної групи в положення 4 або атомів хлору в положення 2 і 5 ароматичного фрагмента 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетатів сприяє посиленню протимітотичної активності, проте фармакологічний потенціал 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетатного фрагмента, на нашу думку, є недостатнім для створення на основі цих сполук ефективних протипухлинних препаратів.

Висновок. Таким чином, на основі продуктів тіоціанатоарилування акриламідів синтезовано ряд 5-арилзаміщених ацетильних похідних 2-амінотіазол-4(5H)-ону. Досліджено їх протипухлинну активність на 60 лініях ракових клітин і встановлено закономірності прояву цитотоксичної дії.

Експериментальна частина. ІЧ-спектри сполук **2а-г** записані у вазеліновій олії на спектрофотометрі «Specord M80» у діапазоні 4000÷400 см⁻¹. Спектри ЯМР ¹H знято в ДМСО-d₆ на приладі «Varian Mercury» (робоча частота 400 МГц) і «Bruker Avance DRX-500» (робоча частота 500 МГц), внутрішній стандарт — ТМС. Індивідуальність синтезованих

сполук встановлювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках «Silufol UV-254» (елюент — гексан : метанол : ацетон, 4:2:1). Елементний аналіз проводили за стандартними методиками.

3-Арил-2-тіоціанатопропанаміди 1а-г одержані за методиками [10, 11].

2-Ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетат 2а. 1,6 г (0,0073 моль) 3-(4-метилбензил)-2-тіоціанатопропанаміду **1а** розчиняли у 20 мл оцтового ангідриду, розчин кип'ятили зі зворотним холодильником упродовж 4 год. Реакційну суміш упарювали при зниженому тиску до об'єму 5 мл, після чого охолоджували. Спостерігалось утворення білих кристалів, після перекристалізації яких з метанолу одержали 1,7 г (85 %) сполуки **2а** з температурою плавлення 168 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 12,09 с (1H, NH); 7,09 с (4H, C₆H₄); 3,82 с (2H, CH₂C₆H₄); 2,27 с (3H, CH₃C₆H₄); 2,25 с, 2,08 с (3H+3H, -C(O)CH₃). Знайдено, %: N 9,09, S 10,49. C₁₅H₁₆N₂O₃S. Обчислено, %: N 9,20, S 10,54.

2-Ацетамідо-5-(2-метоксибензил)тіазол-4-іл-ацетат 2б. Вихід 65 %, T_{пл} 129 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 12,01 с (1H, NH); 7,31-6,94 м (4H, C₆H₄); 3,81 с (2H, CH₂C₆H₄); 3,75 с (3H, CH₃OC₆H₄); 2,26 с, 2,08 с (3H+3H, -C(O)CH₃). Знайдено, %: N 8,59, S 9,90. C₁₅H₁₆N₂O₄S. Обчислено, %: N 8,74, S 10,01.

2-Ацетамідо-5-(4-метоксибензил)тіазол-4-іл-ацетат 2в. Вихід 74 %, T_{пл} 156 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 12,00 с (1H, NH); 7,13 д, 6,86 д (4H, C₆H₄); 3,80 с (2H, CH₂C₆H₄); 3,73 с (3H, CH₃OC₆H₄); 2,27 с, 2,09 с (3H+3H, -C(O)CH₃). Знайдено, %: N 8,68, S 10,07. C₁₅H₁₆N₂O₄S. Обчислено, %: N 8,74, S 10,01.

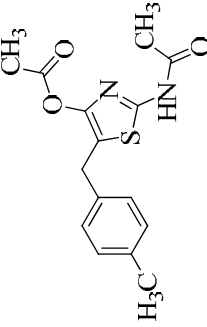
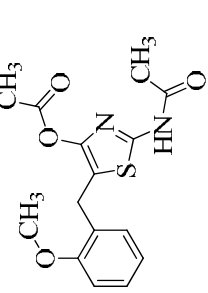
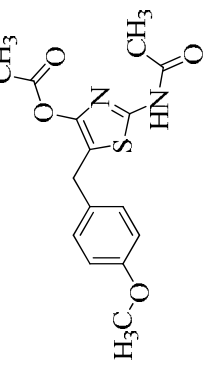
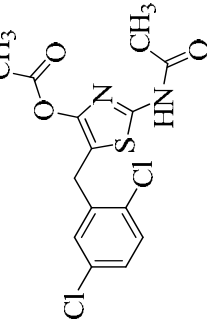
2-Ацетамідо-5-(2,5-дихлорбензил)тіазол-4-іл-ацетат 2г. Вихід 82 %, T_{пл} 204 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 12,12 с (1H, NH); 7,56-7,27 м (3H, C₆H₃); 4,00 с (2H, CH₂C₆H₄); 2,24 с, 2,10 с (3H+3H, -C(O)CH₃). Знайдено, %: N 7,86, S 8,88. C₁₄H₁₂Cl₂N₂O₃S. Обчислено, %: N 7,80, S 8,93.

Автори статті висловлюють щире подяку співробітникам Національного інституту здоров'я США (National Institutes of Health, NIH, USA) за проведені *in vitro* тестування протиракової активності синтезованих сполук.

Надійшла в редакцію 29.12.2015 р.

Таблиця 1

Цитотоксичність 2-ацетамідо-5-бензилтіазол-4-іл-ацетатів (концентрація $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

Сполука	Формула	Середня мітогічна активність 60 ліній, %	Діапазон мітогічної активності 60 ліній, %	Найбільш чутливі лінії клітин і мітогічна активність, %
2a		98,44	66,73÷116,72	A498 (рак нирок): 66,73 NCI-H522 (рак легень): 76,27 TK-10 (рак нирок): 78,25 MOLT-4 (лейкемія): 78,27 PC-3 (рак простати): 79,30
2б		100,55	77,53÷115,80	T-47D (рак молочної залози): 77,53 PC-3 (рак простати): 89,76 NCI-H522 (рак легень): 89,79
2в		99,72	75,41÷117,02	HL-60(ТВ) (лейкемія): 75,41 PC-3 (рак простати): 81,71 HOP-92 (рак легень): 82,59 NCI-H522 (рак легень): 85,34 A498 (рак нирок): 85,41 HCT-116 (рак товстого кишечника): 85,47
2г		95,89	67,13÷122,95	SNB-75 (рак ЦНС): 67,13 HOP-92 (рак легень): 74,13 HL-60(ТВ) (лейкемія): 78,77 TK-10 (рак нирок): 78,57 PC-3 (рак простати): 80,52 RPMI-8226 (лейкемія): 80,93 NCI-H522 (рак легень): 81,76

**Synthesis and antitumor activity
of 2-acetamido-5-benzylthiazol-4-yl acetates**

B.D. Grishchuk¹, R.V. Symchak¹, V.S. Baranovskiy¹, V.M. Yatsiuk¹, V.S. Brovarets²

¹ Ternopil V. Hnatiuk National Pedagogical University
2, M. Kryvonosa Str., Ternopil, 46027, Ukraine

² Institute of Bioorganic and Petroleum Chemistry, NAS of Ukraine
1, Murmanska Str., Kyiv, 02094, Ukraine

Summary. 2-Acetamido-5-benzylthiazole-4-yl acetates were synthesized by cyclization of 3-aryl-2-thiocyanatopropanamides. Antitumor activity of these compounds on 60 lines of cancer cells was investigated. The synthesized compounds have displayed a moderate effect on the line of renal cancer A498 and CNS cancer SNB-75.

Keywords: 2-aminothiazole, anionarylation, 2-acetamido-5-benzylthiazol-4-yl acetates, antitumor activity.

Перелік літератури

1. Grishchuk B.D., Gorbovoi P.M., Ganushchak N.I., Dombrovskii A.V. Reactions of aromatic diazonium salts with unsaturated compounds in the presence of nucleophiles // Russ. Chem. Rev. — 1994. — Vol. 63, No. 3. — P. 257-267.
2. Ганущак М., Обушак М. Каталітичні реакції ароматичних солей діазонію з ненасиченими сполуками // Праці наук. тов. ім. Шевченка. Сер. хем. і біохем. — 1997. — Т. 1. — С. 224-235.
3. Гришчук Б.Д., Горбовий П.М., Барановський В.С., Ганущак М.І. Каталітичні і некаталітичні реакції ароматичних солей діазонію з алкенами у присутності нуклеофілів // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. — 2008. — Т. 6, Вип. 3 (23). — С. 16-32.
4. Обушак М., Матійчук В., Карп'як В., Мартяк Р. Синтез гетероциклів на основі продуктів реакцій арендіазонієвих солей з ненасиченими сполуками // Праці наук. тов. ім. Шевченка. Сер. хем. і біохем. — 2003. — Т. 10. — С. 54-75.
5. Obushak N.D., Matiichuk V.S., Ganushchak N.I. Heterocyclic syntheses on the basis of anionarylation products of unsaturated compounds. I. 2-Amino-5-aryl-methyl-1,3-thiazoles // Russ. J. Org. Chem. — 1997. — Vol. 33, No. 7. — P. 1010-1013.
6. Obushak N.D., Matiichuk V.S., Vasylyshin R.Ya., Ostapyyuk Yu.V. Heterocyclic syntheses on the basis of arylation products of unsaturated compounds: X. 3-Aryl-2-chloropropanals as reagents for the synthesis of 2-amino-1,3-thiazole derivatives // Russ. J. Org. Chem. — 2004. — Vol. 40, No. 3. — P. 383-389.
7. Matiichuk V.S., Obushak N.D., Tsyalkovskii V.M. Synthesis of heterocycles from arylation products of unsaturated compounds: XIII. 5-R¹-benzyl-2-(R²-2-pyridylimino)thiazolidin-4-ones // Russ. J. Org. Chem. — 2005. — Vol. 41, No. 7. — P. 1050-1054.
8. Tsyalkovskiy V.M., Kutsyk R.V., Matiychuk V.S., Obushak M.D., Klyufinska T.I. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(R¹-benzyl)-2-(R-benzylidenedehydrazono)-3-(2-furylmethyl)thiazolidin-4-ones // Pharm. Chem. J. — 2005. — Vol. 39, No. 5. — P. 84-86.
9. Obushak M.D., Karpyak V.V., Ostapiuk Yu.V., Matiychuk V.S. Utilization of methyl 3-aryl-2-thiocyanatopropanoates in the synthesis of 2-(4-morpholinyl)- and 2-(piperazinyl)-5-(benzyl)thiazol-4-ones // Phosph., Sulfur, Silicon and Related Elements. — 2007. — Vol. 182, No. 7. — P. 1437-1445.
10. Baranovskii V.S., Simchak R.V., Grishchuk B.D. Synthesis and heterocyclization of 3-aryl-2-methyl-2-thiocyanatopropanamides // Russ. J. Gen. Chem. — 2009. — Vol. 79, No. 2. — P. 269-273.
11. Grishchuk B.D., Baranovskii V.S., Klimnyuk S.I. Synthesis and antibacterial and antifungal properties of 2-thiocyanato-(2-methyl)-3-arylpropionamides and 2-amino-5-benzyl-(5-methyl)thiazol-4-ones // Pharm. Chem. Journal. — 2011. — Vol. 45, No. 9. — P. 532-535.
12. Крылов И. А., Ковалева В. Л., Сернов Л. Н., Героникаки А. Новые производные аминотиазолов как перспективное направление эндоэкологической регуляции // Экология человека. — 2005. — № 12. — С. 31-36.
13. Uchikawa O., Fukatsu K., Suno M., Aono T., Doi T. *In vivo* biological activity of antioxidative aminothiazole derivatives // Chem. and Pharm. Bull. — 1996. — Vol. 44, No. 11. — P. 2070-2077.
14. Nevagi R.J. Biological and medicinal significance of 2-aminothiazoles // Pharm. Lett. — 2014. — Vol. 6, No. 5. — P. 134-150.
15. Liu W., Zhou J., Qi F., Bendsdorf K., Li Z., Zhang H., Qian H., Huang W., Cai X., Cao P., Wellner A., Gust R. Synthesis and biological activities of 2-amino-thiazole-5-carboxylic acid phenylamide derivatives // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. — 2011. — Vol. 344, No. 7 — P. 451-458.
16. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 16-е издание, перераб. и дополн. — М.: Новая волна, 2010. — 1216 с.
17. Bailey N., Dean A.W., Judd D.B., Middlemiss D., Storer R., Watson S.P. A convenient procedure for the solution phase preparation of 2-aminothiazole combinatorial libraries // Bioorg. & Med. Chem. Lett. — 1996. — Vol. 6, No. 12. — P. 1409-1414.
18. Das J., Furch J.A., Liu C., Moquin R.V., Lin J., Spergel S.H., McIntyre K.W., Shuster D.J., O'day K.D., Penhallow B., Hung C.Y., Doweiko A.M., Kamath A., Zhang H., Marathe P., Kanner S.B., Lin T.A., Dodd J.H., Barrish J.C., Wityak J. Discovery and SAR of 2-amino-5-(thioaryl)thiazoles as potent and selective Itk inhibitors // Bioorg. & Med. Chem. Lett. — 2006. — Vol. 16, No. 14. — P. 3706-3712.
19. Das J., Chen P., Norris D., Padmanabha R., Lin J., Moquin R.V., Shen Z., Cook L.S., Doweiko A.M., Pitt S., Pang S., Shen D.R., Fang Q., de Fex H.F., McIntyre K.W., Shuster D.J., Gillooly K.M., Behnia K., Schieven G.L., Wityak J., Barrish J.C. 2-Aminothiazole as a novel kinase inhibitor template. Structure—activity relationship studies toward the discovery of N-(2-chloro-6-methylphe-

nyl)-2-[[6-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-methyl-4-pyrimidinyl]amino]-1,3-thiazole-5-carboxamide (Dasatinib, BMS-354825) as a potent pan-Src kinase inhibitor // *J. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 49, No. 23. — P. 6819-6832.

20. Nam S., Williams A., Vultur A., List A., Bhalla K., Smith D., Lee F.Y., Jove R. Dasatinib (BMS-354825) inhibits Stat5 signaling associated with apoptosis in chronic myelogenous leukemia cells // *Mol. Cancer Ther.* — 2007. — Vol. 6, No. 4. — P. 1400-1405.

21. Гришук Б.Д., Барановський В.С., Климиук С.І. Синтез біологічно активних речовин — продуктів аніонарилювання ненасичених сполук // *Фарм. часопис.* — 2011. — № 4 (20). — С. 117-126.

22. Alley M.C., Scudiero D.A., Monks A., Hursey M.L., Czerwinski M.J., Fine D.L., Abbott J., Mayo J.G., Shoemaker R.H., Boyd M.R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay // *Cancer Res.* — 1988. — Vol. 48, No. 3. — P. 589-601.

23. Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paull K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigro-Wolff A., Gray-Goodrich M., Campbell H., Moay J., Boyd M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines // *J. Nat. Cancer Inst.* — 1991. — No. 83. — P. 757-766.

24. Boyd M.R., Paull K.D. Some practical considerations and applications of the national cancer institute *in vitro* anticancer drug discovery screen // *Drug Dev. Res.* — 1995. — No. 34. — P. 91-109.

25. Boyd M. The NCI *in vitro* anticancer drug discovery screen: concept, implementation, and operation, 1985-1995. In: Teicher B, editor., ed. *Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials, and Approval.* Totowa, NJ: Humana Press, 1997. — P. 23-42.

26. Shoemaker R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen // *Nat. Rev. Cancer.* — 2006. — Vol. 6, No. 10. — P. 813-823.