

УДК 615.012.1:547.789/.793

М.І. Лелюх¹, Б.С. Зіменковський¹, І.Л. Демчук¹, Анджей Гзелля², Р.Б. Лесик¹

СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ 5-ІЛІДЕНПОХІДНИХ 2-(5-АРИЛ-1,3,4-ОКСАДІАЗОЛ-2-ІЛ)ІМІНОТІАЗОЛІДИН-4-ОНІВ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹,
м. Львів, УкраїнаПознанський медичний університет імені Кароля Марцінковського²,
м. Познань, Польща

e-mail: lelyukh.m@gmail.com

Резюме: На основі реакції ацилювання 2-аміно-5-арил-1,3,4-оксадіазолів хлороацетилхлоридом одержано відповідні *N*-оксадіазолзаміщені 2-хлороацетаміди, які під дією амонію тиоціанату в середовищі ацетону циклізують з утворенням похідних 2-імінотіазолідин-4-ону. У результаті подальшої хімічної модифікації, проведеної в умовах реакції Кньюенагеля з ароматичними альдегідами та похідними ізатину, синтезовано групу 5-іліденопохідних 2-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотіазолідин-4-онів як потенційних протираковинних агентів. Структуру ключових сполук підтверджено спектроскопією ПМР, елементним та рентгеноструктурним аналізом. Скринінг протираковинної активності одержаних сполук на 60 ліній ракових клітин дозволив ідентифікувати «сполуку-хіт», що проявляє високий протимітогенний ефект з середнім значенням GI₅₀=8,39 μM без вираженої селективності впливу на окремі пухлинні клітинні лінії (SI<1,3).

Ключові слова: 2-імінотіазолідин-4-они, 1,3,4-оксадіазоли, аміно-імінна таутомерія, *E/Z*-ізомерія, рентгеноструктурний аналіз, протираковинна активність.

Вступ. Пошук нових високоактивних хімотерапевтичних агентів серед неконденсованих похідних 4-тіазолідинону є одним із пріоритетних напрямів біологічних досліджень вказаної гетеросистеми. Вагоме значення як важливий клас сполук з доказово підтвердженим широким фармакологічним профі-

лем в ряді функціонально заміщених 4-тіазолідинонів займає більш вузька група – 2-імінопохідні, для яких характерними є протираковинна^{12,33}, протимікробна^{21,32}, протизапальна^{6,11}, фунгіцидна²⁴ та антиконвульсанта³¹ активності.

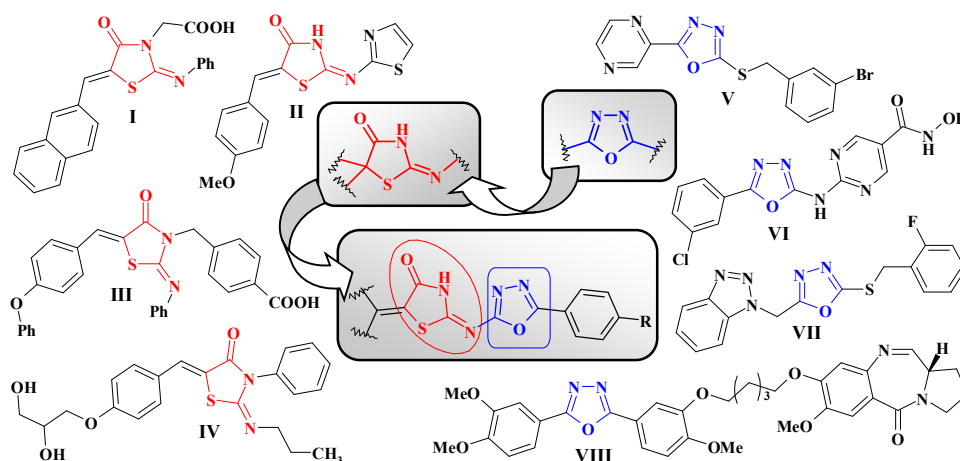


Рис. 1. Встановлений фармакологічний потенціал 5-іліденопохідних 2-імінотіазолідин-4-онів та 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (світовий досвід).

Серед 5-ілідензаміщених 2-імінотіазолідин-4-онів відомі інгібітори альдозоредуктази¹⁷ **I**, тирозинфосфатази немембранного протеїну SHP-2³⁶ **II**, протеїнтирозинфосфатази PTP1B⁷ **III**, циклінзалежної кінази CDK2¹³, а також агоністи рецепторів сфінгозин-1-фосфату¹⁸ **IV** як високоефективні імуномодулятори, що характеризуються концептуально новим підходом до лікування аутоімунних захворювань.

Перспективним в контексті пошуку потенційно активних сполук є поєднання 2-іміно-4-тіазолідинового скафолду з іншими гетероциклами, зокрема 1,3,4-оксадіазольним. Останній є відомим фармакофорним фрагментом, що володіє широкими можливостями в плані хімічної модифікації та встановленим різностороннім фармакологічним потенціалом. Так, серед даного класу сполук ідентифіковані інгібітори теломерази¹⁰ **V**, гістондеацетилази HDAC¹⁴ **VI** та кіназ сімейства FAK³⁵ **VII** як потенційні протипухлинні засоби, індуктори мітохондріально-опосередкованого апоптозу³⁴ **VIII**, а також інгібітори ряду інших фізіологічно важливих ферментів та білків: α -глюкозидази²⁷, катепсину K²⁰, пірофосфатази/фосфодіестерази NPP1²⁶, тирозинази³⁰, біосистеми ЦОГ-2/5-ЛОГ²⁵ тощо. Крім того, 1,3,4-оксадіазольний гетероцикл вважається біоістерним фрагментом до амідної та складноєфірної груп, які значною мірою сприяють посиленню фармакологічної активності, беручи участь в утворенні водневих зв'язків з рецепторами¹⁶.

Мета дослідження. Здійснити синтез нових 5-арил(ізатин)іліденпохідних 2-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотіазолідин-4-онів та провести дослідження їх протипухлинної активності.

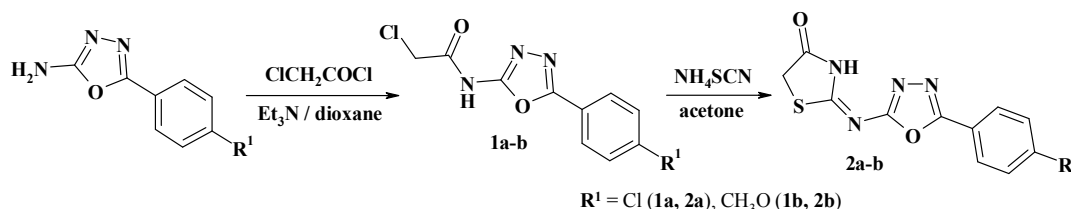
Матеріали та методи дослідження. Вихідні 2-аміно-5-арил-1,3,4-оксадіазоли отримали за відомою методикою²⁸. Синтетичні дослідження проведені з використанням реактивів компанії «Merck» (Дармштадт, Німеччина)

та «Sigma-Aldrich» (Міссурі, США). Структура і склад ключових синтезованих сполук підтверджено елементним аналізом, спектроскопією ПМР та рентгеноструктурним аналізом. Температури плавлення визначали на поляризаційному мікроскопі «NAGEMA-K8», спорядженому нагрівальним столиком «Boetius», за допомогою цифрового термометра «Ama-digit ad 14 th» при швидкості нагрівання 4°C/хв. Елементний аналіз виконували на елементному аналізаторі «Perkin-Elmer 2400, Series II, CHNS/O analyzer».

Протиракова активність синтезованих сполук вивчалась у рамках міжнародної наукової програми Національного інституту здоров'я США – DTP (Developmental Therapeutic Program) Національного інституту раку (NCI, Бетезда, Меріленд, США)^{8,15,29}. Визначення проводилось за стандартною процедурою NCI методом флуоресцентного зафарбовування (барвник – сульфородамін B) і виражалось у формі відсотків росту GP (growth percent, %) клітин ліній раку порівняно із контрольним дослідом.

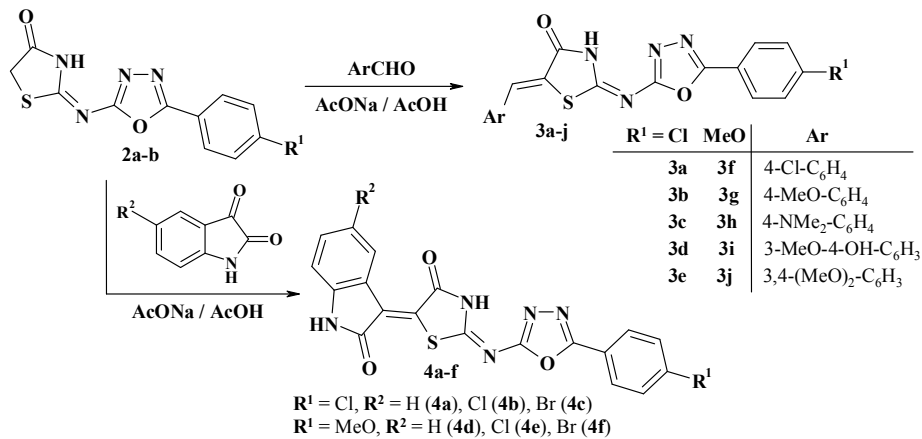
Результати дослідження та їх обговорення. В результаті реакції вихідних 2-аміно-5-арил-1,3,4-оксадіазолів, одержаних за відомою методикою²⁸, з хлороацетилхлоридом в середовищі діоксану в присутності еквімолярної кількості триетиламіну синтезовані відповідні N-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)заміщені 2-хлороацетаміди **1a-b**. При нагріванні сполук **1a-b** з двократним надлишком тіоціанату амонію в ацетоні проходить реакція нуклеофільного заміщення з подальшою спонтанною гетероциклізацією, що супроводжується міграцією замісника в положеннях 2 та 3. Це дозволило одержати ряд нових неконденсованих похідних 2-імінотіазолідин-4-ону з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом в положенні 2 базового гетероциклу **2a-b** (схема 1).

Схема 1



Подальшу хімічну модифікацію синтезованих оксадіазоліл-імінотіазолідинонів **2a-b** проводили в умовах реакції Кьовенагеля (середовище – кислота ацетатна, каталізатор – безводний ацетат натрію) з ароматичними альдегідами та похідними ізатину, що обумовлено встановленим впливом хімічної природи замісника в положенні 5 тіазолідиново-

го циклу на прояв протипухлинної активності^{1,23}. Таким чином нами одержано серії нових 5-іліденпохідних 2-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)-імінотіазолідин-4-онів **3a-j** та **4a-f** з метою вивчення їх протипухлинної активності *in vitro* (схема 2).



Структура синтезованих сполук підтверджена спектрами ПМР, характеристики яких наведені в експериментальній частині. На спектрах ПМР протони диметиламіно- та метоксильних груп утворюють синглети при 3,00-3,01 та 3,84-3,89 м.ч. відповідно. Метиленова група фрагменту CH₂CO для 5-незаміщених похідних (сполуки **2a-b**) проявляється у вигляді синглету в області 4,08-4,12 м.ч. Сигнал метиліденового протону в положенні 5 тiazолідинового циклу зміщений в область слабого магнітного поля і резонує як синглет при 7,65-7,77 м.ч., що свідчить про *Z*-конфігурацію 5-ариліденового фрагменту (сполуки **3a-j**). Для сполук **4a** та **4d** спостерігається характерний субспектр 5-незаміщеної ізатинової системи у вигляді двох дублетів при 6,93-6,94 та 8,81 м.ч., а також двох триплетів при 7,05-7,07 та 7,37 м.ч. Важливо відзначити, що сигнал протону в положенні 4 ізатинового фрагменту 5-ізатиніліден-4-тіазолідионів **4a-f** суттєво зміщений в область слабого магнітного поля і резонує синглетом або дублетом в

ділянці 8,81-9,01 м.ч., що можна пояснити впливом карбонільної групи у положенні 4 тiazолідинового циклу і, відповідно, утворенням *Z*-ізомеру. Сигнал NH-протону в положенні 1 ізатину характерний синглетом або широким синглетом в області 10,99-11,32 м.ч. (сполуки **4a-f**), в той час як NH-протон в положенні 3 тiazолідинового циклу утворює синглет при 12,28-12,46 м.ч. (сполуки **2a-b**) та 12,60-13,06 м.ч. (сполуки **3a-j**, **4a-f**), або не проявляється в результаті дейтерообміну з розчинником.

Для синтезованих 2-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотiazолідин-4-онів характерна прототропна аміно-імінна таутомерія, причому імінформа може існувати у вигляді *Z*- та *E*-ізомерів (рис. 2). За даними літератури^{2,3,4,9,19}, стан рівноваги або перевага однієї з таутомерних форм залежить від ряду факторів, до яких відноситься хімічна природа замісника в положенні 2 тiazолідинового циклу, температура, кристалічний або розчинений стан, а також полярність розчинника.

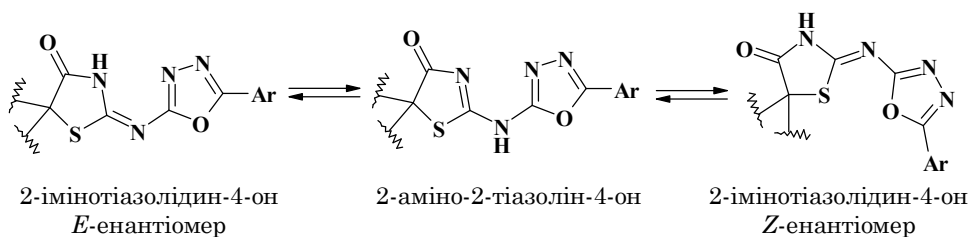


Рис. 2. Можливі таутомерні форми 2-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотiazолідин-4-онів.

Загалом, у літературі наведено досить багато неоднозначних, зокрема і суперечливих, тверджень відносно аміно-імінної таутомерії похідних 4-тіазолідиону та споріднених гетероциклічних систем, які по-різному трактують положення рівноваги або перевагу на користь однієї з таутомерних форм. В нашому випадку, основується на даних спектрів ПМР, а саме за значенням хімізсуву сигналу NH-про-

тону в сторону слабого магнітного поля, що знаходиться в області 12,50 м.ч. і є характерним для циклічного атома Нітрогену тiazолідинового циклу, можна стверджувати про перебування досліджуваних 2-(1,3,4-оксадіазол-2-іл)імін(аміно)тіазолідин-4-онів в розчинах у 2-імінформі. Проте відсутність протонів в 1,3,4-оксадіазольному циклі унеможливило інтерпретацію *E/Z*-ізомерії досліджуваних спо-

лук за допомогою спектроскопії ПМР. Тому для достовірного встановлення будови синтезованих 1,3,4-оксадіазолзаміщених 2-імінотіазолідин-4-онів проведено рентгеноструктурний

аналіз сполуки **2b**, який свідчить про її просторове розміщення в кристалічному стані у вигляді *Z*-конфігурації (рис. 3).

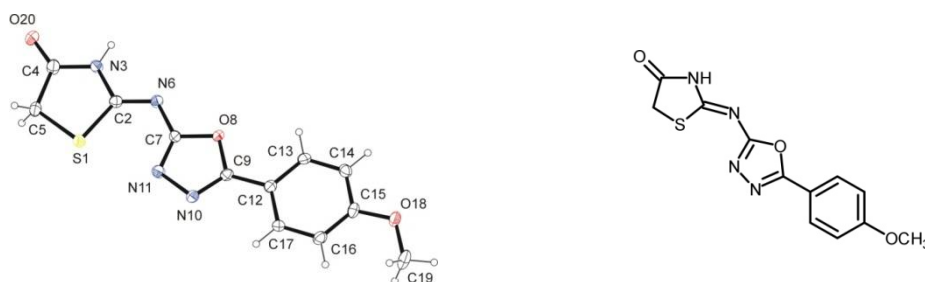


Рис. 3. Рентгеноструктурний аналіз сполуки **2b**.

Для досліджуваних сполук **2b**, **3a-b**, **3e-j**, **4b** та **4e** проводилось вивчення **протиухлинної активності *in vitro*** на 60 ліній ракових клітин, що охоплюють практично весь спектр ракових захворювань людини (лінії раку легень, молочної залози, яєчників, лейкемії, раку товстої кишки, нирок, меланоми, раку простати та ЦНС) при дії речовини в концентрації 10^{-5} моль/л. Експериментальні дані представлені як відсоток росту клітин ліній раку на фоні речовин у порівнянні з контролем.

Загалом тестовані оксадіазоліл-тіазолідинони проявили неоднозначну протиухлинну активність, серед яких для 8 сполук із 11 (за винятком **3b**, **3g** та **3j**) середні значення відсотків росту знаходяться в межах 89,50-

104,68% (табл. 1), що означає фактичну відсутність антимітотичного ефекту. Натомість для трьох сполук, що володіють помірною протиухлинною активністю, вираховані середні значення GP становлять 57,82% (**3b**), 68,88% (**3g**) та 63,23% (**3j**). Для зазначених похідних характерною є виражена селективність дії щодо окремих ліній лейкемії SR (**3b**, GP=29,97%), недрібноклітинного раку легень HOP-62 (**3g**, GP=36,29%) та NCI-H460 (**3g**, GP=37,52%; **3j**, GP=37,52%), раку ЦНС SF-295 (**3b**, GP=29,18%; **3g**, GP=33,47%; **3j**, GP=28,31%), меланоми MDA-MB-435 (**3b**, GP=16,02%) та раку яєчників NCI/ADR-RES (**3j**, GP=31,26%).

Таблиця 1. Протиухлинна активність синтезованих сполук (результати прескринінгу)

Сполука	Мітотична активність 60 ліній, GP %		Набільш чутливі лінії клітин	Мітотична активність, GP %
	середня	діапазон		
1	2	3	4	5
2b	101,94	71,89 ÷ 126,45	SNB-75 (рак ЦНС)	71,89
			A498 (рак нирок)	82,13
3a	103,67	89,83 ÷ 130,67	NCI-H522 (рак легень)	89,83
			UACC-62 (меланома)	90,64
3b	57,82	16,02 ÷ 99,62	MDA-MB-435 (меланома)	16,02
			SF-295 (рак ЦНС)	29,18
			SR (лейкемія)	29,97
			NCI-H460 (рак легень)	30,67
			K-562 (лейкемія)	34,12
			CCRF-CEM (лейкемія)	34,60
			MCF7 (рак молочної залози)	35,80
			OVCAR-3 (рак яєчників)	38,20
			SK-MEL-5 (меланома)	39,49
			CCRF-CEM (лейкемія)	56,34
3e	89,50	56,34 ÷ 122,20	NCI-H460 (рак легень)	69,06
			SF-295 (рак ЦНС)	69,48
3f	103,11	89,12 ÷ 128,14	UO-31 (рак нирок)	89,12
			PC-3 (рак простати)	91,38

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5
3g	68,88	33,47 ÷ 124,95	SF-295 (рак ЦНС)	33,47
			НОР-62 (рак легень)	36,29
			NCI-H460 (рак легень)	37,52
			UACC-62 (меланома)	40,40
			CCRF-CEM (лейкемія)	41,28
			НСТ-15 (рак кишківника)	44,45
			U251 (рак ЦНС)	44,69
			MDA-MB-435 (меланома)	45,10
3h	92,84	47,76 ÷ 129,37	NCI-H226 (рак легень)	45,49
			MDA-MB-435 (меланома)	47,76
			SNB-75 (рак ЦНС)	60,43
			SF-295 (рак ЦНС)	69,84
3i	104,69	89,15 ÷ 134,90	UACC-62 (меланома)	70,82
			MCF7 (рак молочної залози)	89,15
			PC-3 (рак простати)	89,37
3j	63,23	28,31 ÷ 102,10	UO-31 (рак нирок)	89,50
			SF-295 (рак ЦНС)	28,31
			NCI-H460 (рак легень)	28,90
			NCI/ADR-RES (рак яєчників)	31,26
			НСТ-116 (рак кишківника)	36,71
			НСТ-15 (рак кишківника)	37,37
			UACC-62 (меланома)	41,53
			ACHN (рак нирок)	42,20
			SAKI-1 (рак нирок)	42,52
4b	103,20	82,20 ÷ 122,75	LOX IMVI (меланома)	43,26
			CCRF-CEM (лейкемія)	43,35
4e	98,98	82,24 ÷ 139,07	UO-31 (рак нирок)	82,20
			NCI-H522 (рак легень)	92,61
			MDA-MB-468 (рак молочної залози)	82,24
			SAKI-1 (рак нирок)	83,50
			PC-3 (рак простати)	84,65

Аналізуючи одержані результати в контексті «структура-протиопухлинна активність», варто відзначити залежність цитостатичної дії досліджуваних сполук від природи замісника в 5 положенні 4-тіазолідинового фрагменту, що узгоджується з результатами відомих досліджень. Загалом введення більшості ариліденових замісників не сприяло значному підсиленню активності на фоні сполуки **2b**. Проте наявність метоксильних груп в бензиліденовому фрагменті сприяє посиленню цитостатичної дії, про що свідчать високі показники протиопухлинної активності сполук **3g** та **3j** в порівнянні з їх синтетичним прекурсором (**2b**). Незначне загальне посилення антимітогенного ефекту спостерігається при заміні метоксильної групи (**3g**) фенільного радикалу в положенні 5 оксадіазольного циклу атомом Хлору (**3b**).

За результатами прескринінгу сполука **3b** відібрана для ґрунтового *in vitro* скринінгу, який полягав у вивченні активності речовини у 5 концентраціях при 10-кратному розведенні (100µM – 0,01µM)^{8,15,29}. У результаті експерименту розраховано 3 дозозалежні параметри: 1) GI₅₀ – концентрація сполуки, яка викликає пригнічення росту 50% клітин лінії

(ефективне інгібування росту); 2) TGI – концентрація, що створює повне пригнічення росту клітин (цитостатичний ефект); 3) LC₅₀ – концентрація, яка викликає загибель 50% пухлинних клітин (цитотоксична дія). Для визначення селективності дії сполуки на окремі види захворювань розраховано індекс селективності (SI) як відношення середнього значення показника активності (MID GI₅₀ = 8,39 µM) для всіх ліній ракових клітин до середнього значення відповідного показника для окремого виду захворювання. Величину індексу селективності між 3 і 6 трактують як помірну селективність, значення SI > 6 свідчить про високу селективність протиопухлинного ефекту.

Особливо заслуговує на увагу вплив **3b** на окремі пухлинні лінії з високими показниками ефективного інгібування в мікромольних концентраціях (табл. 2).

При аналізі отриманих результатів встановлено, що тестована сполука на всіх 58 досліджуваних лініях пригнічує на 50% ріст пухлинних клітин у концентрації меншій 10⁻⁴ M (GI₅₀ < 100 µM) та створює повне інгібування росту пухлинних клітин у концентрації менше 10⁻⁴ M (TGI < 100 µM) на 12 з 58 досліджу-

ваних ліній. В загальному, результати *in vitro* скринінгу підтвердили значний цитотоксичний ефект сполуки **3b** відносно всіх ліній клітин із середніми значеннями параметрів ефективної концентрації GI₅₀ в діапазоні 6,61-

10,91 μM без вираженої селективності впливу на окремі види онкологічних захворювань (SI<1,3).

Таблиця 2. Результати ґрунтового *in vitro* скринінгу протиракової активності сполуки **3b**

Вид раку MID GI ₅₀ / SI	Лінії клітин раку	GI ₅₀ , μM	Вид раку MID GI ₅₀ / SI	Лінії клітин раку	GI ₅₀ , μM
Меланома 10,5 / 0,80	M14	6,23	Лейкемія 8,03 / 1,04	CCRF-CEM	5,12
	MDA-MB-435	2,80		HL-60(TB)	17,4
	SK-MEL-2	7,36		K-562	4,55
	SK-MEL-28	9,84		MOLT-4	9,10
	SK-MEL-5	4,60		RPMI-8226	7,68
	UACC-257	36,4		SR	4,35
	UACC-62	6,27		Рак яєчників 8,77 / 0,96	IGROV1
A549/ATCC	11,5	OVCAR-3	3,98		
EKVX	4,45	OVCAR-4	0,98		
HOP-62	6,79	OVCAR-5	24,7		
HOP-92	12,3	OVCAR-8	13,2		
NCI-H226	9,45	NCI/ADR-RES	2,98		
NCI-H23	5,45	SK-OV-3	10,3		
Недрібно- клітинний рак легень 7,22 / 1,16	NCI-H322M	6,28	Рак нирок 6,85 / 1,22	786-0	7,18
	NCI-H460	3,39		A498	2,56
	NCI-H522	5,36		ACHN	6,59
	COLO 205	20,10		CAKI-1	1,01
	HCC-2998	13,7		RXF 393	9,55
	HCT-116	4,23		SN12C	13,8
	HCT-15	4,07		TK-10	13,7
Рак кишківника 8,42 / 0,99	HT29	7,52	Рак простати 9,86 / 0,85	UO-31	0,42
	KM12	4,78		PC-3	6,31
	SW-620	4,54		DU-145	13,4
	SF-268	7,47		MCF7	6,71
	SF-295	2,55		MDA-MB-231/ATCC	24,2
Рак ЦНС 6,61 / 1,27	SF-539	8,26	Рак молочної залози 10,91 / 0,77	HS 578T	7,09
	SNB-19	8,68		BT-549	4,89
	SNB-75	6,28		T-47D	18,0
	U251	6,44		MDA-MB-468	4,58

Експериментальна хімічна частина.

Структура і склад синтезованих сполук підтверджені спектроскопією ПМР, дані елементного аналізу відповідають вирахуванню (±0,3%). 2-Хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)ацетаміди (**1a-b**) синтезовані за методом, описаним нами раніше^{5,22}.

Загальна методика синтезу 2-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотіазолідин-4-онів (**2a-2b**). У плоскодонну колбу місткістю 250 мл поміщають 0,025 моль відповідного 2-хлоро-*N*-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)ацетаміду, 0,05 моль амонію тіоціанату, додають 80 мл ацетону і нагрівають під зворотнім холодильником протягом 5 год. Реакційну суміш після повного охолодження заливають водою, осаджений продукт реакції відфільтровують, промивають водою і перекристалізують із суміші ДМФА-етанол (1:2).

Сполука 2a. Вихід 87%. Т. пл. 273-274°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 4,08с (2H, 5-CH₂, тіазолідин); 7,55д (2H, *J*=8,3 Hz, аром); 7,95д (2H, *J*=8,3 Hz, аром); 12,46шс (1H, NH-тіазолідин).

Сполука 2b. Вихід 83%. Т. пл. 261-262°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,86с (3H, OCH₃); 4,12с (2H, 5-CH₂, тіазолідин); 7,11д (2H, *J*=8,2 Hz, аром); 7,88д (2H, *J*=7,8 Hz, аром); 12,28шс (1H, NH-тіазолідин).

Загальна методика синтезу 5-ариліденпохідних (**3a-3j**) та 5-ізатиніліденпохідних (**4a-4f**) 2-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотіазолідин-4-онів. Суміш 0,002 моль сполуки **2a** або **2b**, 0,0022 моль відповідного ароматичного альдегіду або похідного ізатину та 0,002 моль ацетату натрію поміщають в круглодонну колбу, додають 15 мл ацетатної кислоти і кип'яять зі зворотнім холодильником протягом 5 год. Осад, який утворився, відфільтровують, промивають послідовно ацетатною кис-

лотою, водою та етанолом, висушують і перекристалізують з суміші ДМФА-етанол (1:1).

Сполука 3а. Вихід 76%. Т.пл. >320°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 7,58д (4H, J=8,3 Hz, аром); 7,67д (2H, J=8,5 Hz, аром); 7,76 (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,97д (2H, J=8,4 Hz, аром); 12,73с (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 3б. Вихід 67%. Т.пл. 259-260°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,86с (3H, OCH₃); 7,17д (2H, J=8,5 Hz, аром); 7,65д (4H, J=8,4 Hz, аром); 7,78 (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,96д (2H, J=8,4 Hz, аром); 12,60с (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 3с. Вихід 72%. Т.пл. 283-284°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,00с (6H, N(CH₃)₂); 6,88д (2H, J=8,4 Hz, аром); 7,50д (2H, J=8,4 Hz, аром); 7,59д (2H, J=8,0 Hz, аром); 7,79 (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,98д (2H, J=8,0 Hz, аром); 12,76с (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 3д. Вихід 68%. Т.пл. 277-278°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,89с (3H, OCH₃); 6,97д (1H, J=7,5 Hz, аром); 7,13д (1H, J=7,3 Hz, аром); 7,17с (1H, аром); 7,56д (2H, J=7,9 Hz, аром); 7,69с (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,97д (2H, J=7, Hz, аром); 9,76с (1H, OH); 12,89шс (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 3е. Вихід 73%. Т.пл. 268-269°C.

Сполука 3ф. Вихід 75%. Т.пл. 304-305°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,89с (3H, OCH₃); 7,08д (2H, J=8,5 Hz, аром); 7,58д (2H, J=8,3 Hz, аром); 7,67д (2H, J=8,6 Hz, аром); 7,77с (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,92д (2H, J=8,4 Hz, аром); NH (дейтерообмін).

Сполука 3г. Вихід 69%. Т.пл. 276-277°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,85с (6H, 2*OCH₃); 7,12-7,19м (4H, аром); 7,66д (2H, J=8,7 Hz, аром); 7,75с (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,91д (2H, J=8,8 Hz, аром); 12,99шс (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 3г. Вихід 74%. Т.пл. 291-292°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,01с (6H, N(CH₃)₂); 3,85с (3H, OCH₃); 6,87д (2H, J=8,3 Hz, аром); 7,12д (2H, J=8,5 Hz, аром); 7,50д (2H, J=8,4 Hz, аром); 7,66с (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,90д (2H, J=8,6 Hz, аром); NH (дейтерообмін).

Сполука 3і. Вихід 72%. Т.пл. 277-278°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,86с, 3,89с (6H, 2*OCH₃);

6,97д (1H, J=8,1 Hz, аром); 7,05д (2H, J=8,3 Hz, аром); 7,13д (1H, J=8,1 Hz, аром); 7,18с (1H, аром); 7,76с (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,89д (2H, J=8,4 Hz, аром); 9,77шс (1H, OH); 12,83шс (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 3ж. Вихід 69%. Т.пл. 250-251°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,85с (9H, 3*OCH₃); 7,11д (2H, J=8,6 Hz, аром); 7,20д (1H, J=8,9 Hz, аром); 7,27с (2H, аром); 7,69с (1H, 5-CH=, тiazолідин); 7,89д (2H, J=8,7 Hz, аром); 13,06шс (1H, NH-тiazолідин).

Сполука 4а. Вихід 76%. Т.пл. >320°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,94д (1H, J=7,5 Hz, ізатин); 7,07т (1H, J=8,1 Hz, ізатин); 7,37т (1H, J=7,4 Hz, ізатин); 7,63д (2H, J=8,4 Hz, аром); 7,97д (2H, J=8,2 Hz, аром); 8,81д (1H, J=7,9 Hz, ізатин); 11,09шс (1H, NH, ізатин); NH (тiazолідин, дейтерообмін).

Сполука 4б. Вихід 73%. Т.пл. >320°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6,95д (1H, J=7,8 Hz, ізатин); 7,34д (1H, J=7,4 Hz, ізатин); 7,58д (2H, J=8,2 Hz, аром); 8,01д (2H, J=8,1 Hz, аром); 8,89с (1H, ізатин); 11,32с (1H, NH, ізатин); NH (тiazолідин, дейтерообмін).

Сполука 4с. Вихід 78%. Т.пл. >320°C.

Сполука 4д. Вихід 75%. Т.пл. 317-318°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,85с (3H, OCH₃); 6,93д (1H, J=7,6 Hz, ізатин); 7,05т (1H, J=8,0 Hz, ізатин); 7,11д (2H, J=8,1 Hz, аром); 7,37т (1H, J=7,5 Hz, ізатин); 7,90д (2H, J=8,2 Hz, аром); 8,81д (1H, J=7,9 Hz, ізатин); 10,99шс (1H, NH, ізатин); NH (тiazолідин, дейтерообмін).

Сполука 4е. Вихід 73%. Т.пл. >320°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,84с (3H, OCH₃); 6,95д (1H, J=8,1 Hz, ізатин); 7,12д (2H, J=8,8 Hz, аром); 7,42д (1H, J=7,5 Hz, ізатин); 7,89д (2H, J=8,7 Hz, аром); 8,85с (1H, ізатин); 11,29с (1H, NH, ізатин); NH (тiazолідин, дейтерообмін).

Сполука 4ф. Вихід 76%. Т.пл. 216-217°C. ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 3,88с (3H, OCH₃); 6,95д (1H, J=7,8 Hz, ізатин); 7,15д (2H, J=8,5 Hz, аром); 7,56д (1H, J=7,7 Hz, ізатин); 7,93д (2H, J=8,6 Hz, аром); 9,01с (1H, ізатин); 11,15с (1H, NH, ізатин); NH (тiazолідин, дейтерообмін).

Висновки:

1. На основі реакції гетероциклізації *N*-оксадіазолзаміщених 2-хлороацетамідів під дією амонію тиоціанату в середовищі ацетону одержано відповідні похідні 2-іміно-тiazолідин-4-ону, які модифіковано в реакції *Кньюенгеля* з ароматичними альдегідами та похідними ізатину.
2. Досліджено аміно-імінну таутомерію 2-(5-арил-1,3,4-оксадіазол-2-іл)імінотiazолі-

дин-4-онів і встановлено, що в розчині та у кристалічному стані вони існують у вигляді *Z*-ізомеру іміноформи.

3. За результатами вивчення протипухлинної активності ідентифіковано сполуку-хіт, що характеризується виразним цитостатичним ефектом в мікромольній концентрації.

Автори статті висловлюють щире подяку д-ру В.Л. Нараянану (Dr. V.L. Narayanan, Drug Synthesis and Chemistry, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) за проведене *in vitro* тестування протиракової активності синтезованих сполук.

Література:

1. *Зіменковський Б.С.* 4-Тіазолідони. Хімія, фізіологічна дія, перспективи / *Б.С. Зіменковський, Р.Б. Лесик.* Вінниця: Нова книга, 2004. – 106 с.
2. Исследование реакционной способности и таутомерии азолидинов. XXIV. Прототропная таутомерия и кислотно-основные свойства 2-амино- Δ^2 -тиазолин-4-она / *С.М. Рами, А.И. Гиняк, Н.А. Сморго* [и др.] // *ЖОрХ.* – 1978. – Т. XIV, № 6. – С. 1327-1332.
3. *Лесик Р.Б.* Синтез та біологічна активність конденсованих і неконденсованих гетероциклічних систем на основі 4-азолідионів: Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра фарм. наук: 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» / *Р.Б. Лесик.* – Львів, 2005. – 39 с.
4. *Матійчук В.С.* Циклізації продуктів галогенарилування акролеїну і похідних акрилової кислоти з S,N-нуклеофілами: Автореф. дис. ... канд. хім. наук: спец. 02.00.03. «Органічна хімія» / *В.С. Матійчук.* – Львів, 2001. – 19 с.
5. Синтез нових неконденсованих похідних 4-тіазолідинону з 1,3,4-оксадіазольним фрагментом у молекулах та їх протираковинна активність / *М.І. Лелюх, Д.Я. Гаврилюк, Б.С. Зіменковський* [та ін.] // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики.* – 2012. – №3 (9). – С. 51-55.
6. 5-Arylidene-2-imino-4-thiazolidinones: Design and synthesis of novel anti-inflammatory agents / *R. Ottana, R. Maccari, M.L. Barreca* [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 13. – P. 4243-4252.
7. 5-Arylidene-2-phenylimino-4-thiazolidinones as PTP1B and LMW-PTP inhibitors / *R. Ottana, R. Maccari, R. Ciurleo* [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 17. – P. 1928-1937.
8. *Boyd M.R.* Some practical considerations and applications of the national cancer institute in vitro anticancer drug discovery screen / *M.R. Boyd, K.D. Paull* // *Drug Dev. Res.* – 1995. – Vol. 34. – P. 91-109.
9. *Comrie A.M.* Tautomerism of 2-iminothiazolin-4-ones and 2-amino-2-thiazolin-4-ones / *A.M. Comrie* // *J. Chem Soc.* – 1964. – № 9. – P. 3478-3480.
10. Design, synthesis and biological evaluation of heterocyclic azoles derivatives containing pyrazine moiety as potential telomerase inhibitors / *Y.-B. Zhang, X.-L. Wang, W. Liu* [et al.] // *Bioorg. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 20. – P. 6356-6365.
11. Design, synthesis and biological screening of new 4-thiazolidinone derivatives with promising COX-2 selectivity, anti-inflammatory activity and gastric safety profile / *K.R.A. Abdellatif, M.A. Abdelgawad, H.A.H. Elshemy* [et al.] // *Bioorg. Chem.* – 2016.
12. Design, synthesis, cytoselective toxicity, structure-activity relationships, and pharmacophore of thiazolidinone derivatives targeting drug-resistant lung cancer cells / *H. Zhou, S. Wu, S. Zhai* [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 51. – P. 1242-1251.
13. Discovery of a potent CDK2 inhibitor with a novel binding mode, using virtual screening and initial, structure-guided lead scoping / *C.M. Richardson, C.L. Nunns, D.S. Williamson* [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2007. – Vol. 17. – P. 3880-3885.
14. 2,5-Disubstituted-1,3,4-oxadiazoles/thiadiazole as surface recognition moiety: Design and synthesis of novel hydroxamic acid based histone deacetylase inhibitors / *H. Rajak, A. Agarawal, P. Parmar* [et al.] // *Bioor. Med. Chem. Lett.* – 2011. – Vol. 21. – P. 5735-5738.
15. *Grever M.R.* The national cancer institute: cancer drug discovery and development program / *M.R. Grever, S.A. Schepartz, B.A. Chabner* // *Seminars in Oncology.* – 1992. – Vol. 19, № 6. – P. 622-638.
16. *Guimarães C.R.W.* Elucidation of fatty acid amide hydrolase inhibition by potent α -keto heterocycle derivatives from Monte Carlo simulations / *C.R.W. Guimarães, D.L. Boger, W.L. Jorgensen* // *J. Amer. Chem. Soc.* – 2005. – Vol. 127, № 49. – P. 17377-17384.
17. Identification of 5-arylidene-4-thiazolidinone derivatives endowed with dual activity as aldose reductase inhibitors and antioxidant agents for the treatment of diabetic complications / *R. Ottana, R. Maccari, M. Giglio* [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46. – P. 2797-2806.
18. 2-Imino-thiazolidin-4-one derivatives as potent, orally active S1P₁ receptor agonists / *M.H. Bolli, S. Abele, C. Binkert* [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 53. – P. 4198-4211.
19. *Kessler H.* Nachweis innermolekularer Beweglichkeit durch NMR-spektroskopie. XXV. Planare stickstoffinversion in iminokohlensäureestern und iminodithiokohlensäureestern. Einfluss der substitution am iminokohlensäurestoff auf die inversionsgeschwindigkeit am Stickstoff / *H. Kessler, P.F. Bley, D. Leibfritz* // *Tetrahedron.* – 1971. – Vol. 27. – P. 1687-1697.
20. Keto-1,3,4-oxadiazoles as cathepsin K inhibitors / *J.T. Palmer, B.L. Hirschbein, H. Cheung* [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2006. – Vol. 16. – P. 2909-2914.
21. *Kocabalkanli A.* Synthesis of Mannich bases of some 2,5-disubstituted 4-thiazolidinones and evaluation of their antimicrobial activities / *A. Kocabalkanli, O. Ates, G. Otuk* // *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* – 2001. – Vol. 334. – P. 35-39.

22. *Lelyukh M.* Synthesis and anticancer activity of isatin, oxadiazole and 4-thiazolidinone based conjugates / *M. Lelyukh, D. Havrylyuk, R. Lesyk* // Chemistry & Chemical Technology. – 2015. – Vol. 9, No 1. – P. 29-36.
23. *Lesyk R.* 4-Thiazolidones: Centenarian History, Current Status and Perspectives for Modern Organic and Medicinal Chemistry / *R. Lesyk, B. Zimenkovsky* // Curr. Org. Chem. – 2004. – Vol. 8, №16. – P. 1547–1578.
24. Novel 4-thiazolidinone derivatives as potential antifungal and antibacterial drugs / *K. Omar, A. Geronikaki, P. Zoumpoulakis* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2010. – Vol. 18. – P. 426-432.
25. 1,3,4-Oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole, and 1,2,4-triazole analogs of the fenamates: *in vitro* inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase activities / *D.H. Boschelli, D.T. Connor, D.A. Bornemeier* [et al.] // J. Med. Chem. – 1993. – Vol. 36, № 13. – P. 1802–1810.
26. 1,3,4-Oxadiazole-2(3*H*)-thione and its analogues: A new class of non-competitive nucleotide pyrophosphatases/phosphodiesterases 1 inhibitors / *K.M. Khan, N. Fatima, M. Rasheed* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2009. – Vol. 17. – P. 7816–7822.
27. Oxadiazoles and thiadiazoles: Novel α -glucosidase inhibitors / *H. Kashtoh, S. Hussain, A. Khan* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2014. – Vol. 22. – P. 5454–5465.
28. *Rajak H.* Synthesis and local anesthetic activity of some novel *N*-[5-(4-substituted)phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl]-2-(substituted)-acetamides / *H. Rajak, M. D. Kharya, P. Mishra* // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2008. – Vol. 341. – P. 247-261.
29. *Shoemaker R.H.* The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen / *R.H. Shoemaker* // Nature Reviews Cancer. – 2006. – Vol. 6. – P. 813-823.
30. Structure–activity relationships of tyrosinase inhibitory combinatorial library of 2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazole analogues / *M.T.H. Khan, M.I. Choudhary, K.M. Khan* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2005. – Vol. 13. – P. 3385–3395.
31. Synthesis and anticonvulsant activity of clubbed thiazolidinone-barbituric acid and thiazolidinone-triazole derivatives / *M.R. Shiradkar, M. Ghodake, K.G. Bothara* [et al.] // ARKIVOC. – 2007. – Vol. 14. – P. 58-74.
32. Synthesis and antimicrobial activity of novel 2-thiazolylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones / *P. Vicini, A. Geronikaki, K. Anastasia* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2006. – Vol. 14. – P. 3859-3864.
33. Synthesis and biological evaluation of novel 2-heteroarylimino-1,3-thiazolidin-4-ones as potential anti-tumor agents / *G. Revelant, S. Huber-Villaume, S. Dunand* [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2015. – Vol. 94. – P. 102-112.
34. Synthesis, anticancer activity and mitochondrial mediated apoptosis inducing ability of 2,5-diaryloxadiazole-pyrrolobenzodiazepine conjugates / *A. Kamal, D. Dastagiri, M.J. Ramaiah* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2010. – Vol. 18. – P. 6666–6677.
35. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of novel 1,3,4-oxadiazole derivatives possessing benzotriazole moiety as FAK inhibitors with anticancer activity / *S. Zhang, Y. Luo, L.-Q. He* [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2013. – Vol. 21. – P. 3723–3729.
36. 2-Thiazolylimino/heteroarylimino-5-arylidene-4-thiazolidinones as new agents with SHP-2 inhibitory action / *A. Geronikaki, P. Eleftheriou, P. Vicini* [et al.] // J. Med. Chem. – 2008. – Vol. 51. – P. 5221-5228.

УДК 615.012.1:547.789/.793

СИНТЕЗ І ИЗУЧЕННЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЇ АКТИВНОСТІ 5-ИЛИДЕН-ПРОИЗВОДНИХ 2-(5-АРИЛ-1,3,4-ОКСАДИАЗОЛ-2-ИЛ)ИМИНОТІАЗОЛИДИН-4-ОНОВ

М.І. Лелюх¹, Б.С. Зименковський¹, І.Л. Демчук¹, Анджей Гзелля², Р.Б. Лесык¹

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹, г. Львів, Україна
Познанський медичний університет імені Кароля Марцинковського², г. Познань, Польща*

Резюме: На основі реакції ацилювання 2-аміно-5-арил-1,3,4-оксадіазолів хлороацетилхлоридом отримано відповідні *N*-оксадіазолзамінені 2-хлороацетаміди, які під впливом амонію тиоціанату в середі ацетона циклізують з утворенням производних 2-імінотіазолідин-4-она. В результаті подальшої хімічної модифікації, проведеної в умовах реакції *Кнівенагеля* з ароматическими альдегідами і производними ізатина, синтезовано групу 5-іліденпроизводних 2-(1,3,4-оксадіазол-2-ил)імінотіазолідин-4-онов як потенціальних протівіоопухолесвих агентов. Строекне ключевих соедіненій підтверждено спектроскопіей ПМР, елементним і рентгеноструктурним аналізом. Скрінінг протівіоопухолесвой активності отриманих соедіненій на 60 лінійях ракових кліток позволю ідентифікувати «соедіненіе-хіт», обладающее высоким протівіомітотическим эффектом со средним значеніем GI₅₀=8,39 μ M без выраженной селективности воздействия на отдельные виды онкологических заболеваний (SI<1,3).

Ключевые слова: 2-імінотіазолідин-4-они, 1,3,4-оксадіазолы, аміно-імінная таутомерія, *E/Z*-ізомерія, рентгеноструктурний аналіз, протівіоопухолесвая активність.

UDK 615.012.1:547.789/.793

SYNTHESIS AND ANTITUMOR EVALUATION OF 5-YLIDENE DERIVATIVES 2-(5-ARYL-1,3,4-OXADIAZOLE-2-YL)IMINOTHIAZOLIDIN-4-ONES

M.I. Lelyukh¹, B.S. Zimenkovsky¹, I.L. Demchuk¹, Andrzej Gzella², R.B. Lesyk¹

Danylo Halytsky Lviv National Medical University¹, Lviv, Ukraine

Karol Marcinkowski Poznan University of Medical Science², Poznan, Poland

Summary: Based on the acylation reaction of 2-amino-5-aryl-1,3,4-oxadiazoles with chloroacetyl chloride, the corresponding *N*-oxadiazole substituted 2-chloroacetamides were synthesized and utilized in heterocyclization reaction with ammonium thiocyanate in acetone medium for obtaining 2-iminothiazolidin-4-one derivatives. Further chemical modification performed via Knoevenagel condensation with aromatic aldehydes or isatin derivatives yielded 5-ylidene substituted 2-(1,3,4-oxadiazole-2-yl)iminothiazolidin-4-ones as potent anticancer agents. The structures of key compounds were confirmed by NMR spectroscopy, elemental and X-ray analysis. Anticancer activity screening of synthesized compounds toward 60 human tumor cell lines panel allowed us to identify hit-compound with high antitumor activity (GI₅₀=8.39 μM) without selectivity toward the illness subpanel (SI<1.3).

Keywords: 2-iminothiazolidin-4-ones, 1,3,4-oxadiazoles, amino-imino tautomerism, E/Z-isomerism, X-ray study, antitumor activity.

Надійшла до редакції 14.12.2015 р.