

УДК 547.587.51: 547.491.1

# СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 3-(5-R-АМИНО-1,3,4-ТИАДІАЗОЛ-2-ІЛ)КУМАРИНІВ

К.М.Ситник, І.Є.Билов, С.М.Коваленко

Національний фармацевтичний університет,  
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua

**Ключові слова:** кумарини; 1,3,4-тиадіазоли; рециклізація; протипухлинна дія; протитуберкульозна дія

**Запропоновано новий метод синтезу 3-(5-R-аміно-1,3,4-тиадіазол-2-іл)кумаринів, заснований на рециклізації 2-імінокумарин-3-карбоксамідів під впливом тіосемікарбазидів у кислому середовищі. Показані переваги такого методу над альтернативними шляхами синтезу. Висловлене припущення щодо механізму реакції. Досліджено протипухлинну та протитуберкульозну дію синтезованих речовин.**

**THE SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3-(5-R-AMINO-1,3,4-TIADIAZOL-2-YL)COUMARINES**  
**K.M.Sytnik, I.Ye.Bylov, S.N.Kovalenko**

**We suggested new method of synthesis of 3-(5-R-amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)coumarines based on the recyclization of 2-iminocoumarin-3-carboxamides under action of tiosemicarbazides in acids. The advantages of suggested method over alternative synthetic ways have been discussed. The mechanism of the reaction was supposed. Anticancer and anti-tuberculous activities of synthesized compounds have been examined.**

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 3-(5-R-АМИНО-1,3,4-ТИАДІАЗОЛ-2-ІЛ)КУМАРИНОВ**  
**К.М.Сытник, И.Е.Былов, С.Н.Коваленко**

**Предложен новый метод синтеза 3-(5-R-амино-1,3,4-тиадіазол-2-іл)кумаринов, основанный на рециклизации 2-иминокумарин-3-карбоксамидов под действием тиосемикарбазидов в кислой среде. Показаны преимущества данного метода над альтернативными путями синтеза. Высказаны предположения о механизме реакции. Исследованы противоопухолевая и противотуберкулезная активность синтезированных веществ.**

Відомо, що 3-(1,3,4-тиадіазоліл-2)кумарини виявляють антимікробну [1], протизапальну, анальгезуючу дію та пригнічують активність трипсину [2]. Крім того, ці сполуки використовуються у текстильній промисловості як флуоресцентні матеріали [3]. Тому 3-(1,3,4-тиадіазоліл-2)кумарини давно привертають увагу дослідників. Одержання тіадіазолілкумаринів зводиться до двох прийомів: конденсації саліцилових альдегідів з метиленактивними тіадіазолами [3, 4] або формування тіадіазольного циклу під дією Р<sub>2</sub>S<sub>5</sub> на похідні амідрозонів кумарин-3-карбонової кислоти [5].

У попередній роботі [6] нами був запропонований метод синтезу 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксамідів. У продовження цих досліджень ми вивчили можливість перетворення таких сполук у відповідні 3-(1,3,4-тиадіазоліл-2)кумарини. Спроба здійснити циклізацію тіосемікарбазонокумаринів 3 у тіадіазолілкумарини 4 нагріванням у нітробензолі, яке виправдало себе в синтезі 3-(1,3,4-оксадіазоліл-2)кумаринів [7], успіху не принесла і призвела лише до сильного осмолення реакційної суміші. В той же час ми помітили, що 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксаміди 3 легко перетворюються на тіадіазолілкумарини 4, якщо їх нагрівати в ДМФА чи ДМСО (схема 1).

Раніше було відзначено [8], що при розчиненні 2-імінокумарин-3-карбоксамідів у ДМСО-D<sub>6</sub> відбувається розкриття піранового циклу з утворенням лінійної структури (схема 2).

Крім того, у роботі [9] нами було показано, що кіп'ятіння розчинів 2-імінокумарин-3-карбоксамідів в аprotонних основних розчинниках призводить до більш глибоких перетворень — рециклізації з утворенням нітрилів кумарин-3-карбонових кислот. Ці факти свідчать про те, що навіть розчинники основної природи можуть виступати в ролі нуклеофілу, що атакує вуглецевий атом у положенні 2 2-імінокумарин-3-карбоксаміду в реакції рециклізації. Хоча ці перетворення у випадку 2-N-заміщених імінокумаринів не описані, ми припустили, що нагріваючи 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксаміди в аprotонних основних розчинниках процес рециклізації буде полегшений додатковою дією розчинника. Очевидно, у ДМФА відбувається розкриття піранового циклу і таким чином нуклеофільна атака, яка супроводжується циклізацією в 1,3,4-тиадіазол 4, перебігає легше. Тому нетривале нагрівання (протягом 10-20 хв) у ДМФА лінійних 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксамідів 3 призводить до утворення тіадіазолілкумаринів 4. От-

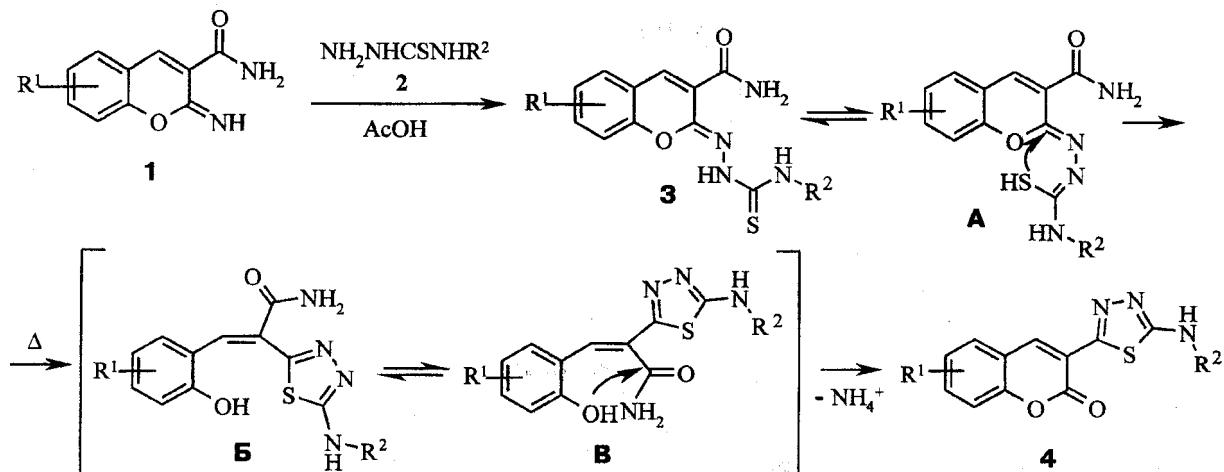


Схема 1

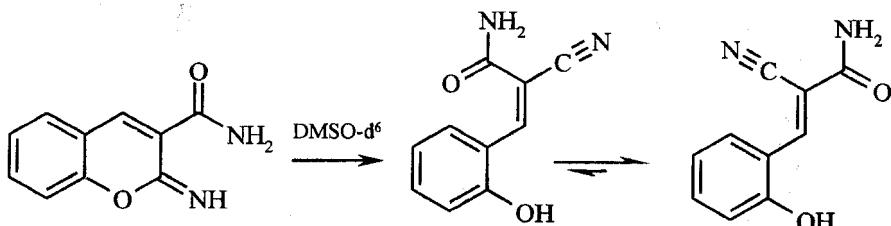


Схема 2

римані цим методом сполуки не потребують додаткової очистки.

З огляду на те, що 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксаміди 3 утворюються у середовищі оцтової кислоти, певний інтерес представляє синтез цільових тіадіазолілкумаринів 4 рециклізацією 2-імінокумарин-3-карбоксамідів 1 під дією тіосемікарбазидів 2 без виділення проміжних 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксамідів 3. Як виявилось, принцип one pot synthesis у даному ви-

падку себе виправдав, а запропонований метод синтезу 3-(2-1,3,4-тіадіазоліл-5-аміно)кумаринів виявився дуже зручним і легким у виконанні.

Вірогідно, що 2-(R-тіосемікарбазоно)кумарин-3-карбоксаміди 3 за рахунок тіамідо-імідотіольної таутомерії здатні до внутрішньомолекулярної атаки тіольної групи інтермедиату А по “електронодефіцитному” атому вуглецю в положенні 2 кумарину. При цьому відбувається розкриття імінолактонного і замикання 1,3,4-тіадіазольного циклу.

Таблиця 1

Характеристики 3-(5-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів 4а-к

Сполучка	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Брутто формула	Вихід, %	Tпл., °C*	vNH	vC=O	vC=C	v (інших груп)	Пригнічення розвитку M. tuberculosis H37Rv, %
4а	5,6-бензо	H	C <sub>15</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	77	>300	3408/3211	1704	1600	—	96
4б	5,6-бензо	Ph	C <sub>21</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	90	285	3422	1712	1624	1600	—
4в	6-C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> , 7-OH	H	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	66	>300	3456/3336	1688	1608	3224(O-H); 2920, 2848(C-H)	89
4г	6-Br	H	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	85	>300	3408/3224	1716	1600	—	85
4д	8-OCH <sub>3</sub>	H	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	71	300	3448/3296	1716	1608	—	19
4е	8-OCH <sub>3</sub>	Ph	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	81	>300	3320	1716	1600	—	78
4е	6-NO <sub>2</sub>	H	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	42	>300	3456/3361	1724	1608	1528/1344(NO <sub>2</sub> as/s)	18
4ж	6-NO <sub>2</sub>	Ph	C <sub>17</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	50	>300	3328	1704	1608	1532/1344(NO <sub>2</sub> as/s)	54
4з	6-OCH <sub>3</sub>	H	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	79	>300	3408/3305	1700	1636	—	52
4и	6-OCH <sub>3</sub>	Ph	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	81	>300	3320	1700	1608	—	31
4и	7-OH	H	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	68	>300	3424/3248	1704	1600	3152(vO-H)	21
4к	7-OH	Ph	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	76	>300	3340	1723	1628	3128(vO-H)	19

\* — Усі сполуки плавляться з розкладанням

Таблиця 2

Спектри ПМР 3-(5-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів 4а-к(ДМСО-D<sub>6</sub>)

Сполука	Хімічний зсув $\delta$ , м.д.			
	NH	4-Н (1Н, с)	Hаром.	інші протони
4а	7,35 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	9,45	8,62 (1Н, д, 9-Н); 8,2 (1Н, д, 8-Н); 8,04 (1Н, д, 5-Н); 7,77 (1Н, т, 6-Н); 7,51-7,64 (1Н, м, 7,10-Н)	—
4б	10,35 (1Н, с, NH)	9,65	8,63 (1Н, д, 9-Н); 8,19 (1Н, д, 8-Н); 8,01 (1Н, д, 5-Н); 7,79 (1Н, т, 6-Н); 7,57-7,68 (4Н, м, 7,10,2',6'-Н); 7,33 (2Н, т, 3',5'-Н); 6,97 (1Н, т, 4'-Н)	—
4в	7,20 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	8,68	6,79 (1Н, с, 8-Н); 7,58 (1Н, с, 5-Н)	10,7 (1Н, с, OH); 0,82 (3Н, т, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,25 (6Н, м, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,50 (2Н, м, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> ); 2,50 (2Н, т, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> )
4г	7,39 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	8,82	7,41 (1Н, д, 8-Н); 7,72 (1Н, д, 7-Н); 8,12 (1Н, с, 5-Н)	—
4д	7,32 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	8,79	7,4 (1Н, с, 5-Н); 7,22-7,3 (2Н, м, 6,7-Н)	3,95 (3Н, с, OCH <sub>3</sub> )
4е	10,39 (1Н, с, NH)	8,91	7,63 (2Н, д, 2',6'-Н); 7,42 (1Н, д, 5-Н); 7,24-7,33 (4Н, м, 7,6,3',5'-Н); 6,93 (1Н, т, 4'-Н)	3,99 (3Н, с, OCH <sub>3</sub> )
4е	7,34 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	9,05	7,62 (1Н, д, 8-Н); 8,41 (1Н, д, 6-Н); 8,89 (1Н, с, 5-Н)	—
4ж	10,45 (1Н, с, NH)	9,17	8,97 (1Н, с, 5-Н); 8,45 (1Н, д, 7-Н); 8,60-8,70 (3Н, м, 8,2',6'-Н); 7,33 (2Н, т, 3',5'-Н); 6,98 (1Н, т, 4'-Н)	—
4з	7,25 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	8,80	7,17 (1Н, д, 8-Н); 7,33 (1Н, д, 7-Н); 7,38 (1Н, с, 5-Н)	3,82 (3Н, с, OCH <sub>3</sub> )
4и	10,35 (1Н, с, NH)	8,93	7,64 (2Н, д, 2',6'-Н); 7,43 (1Н, д, 5-Н); 7,35 (1Н, д, 7-Н); 7,27-7,33 (2Н, м, 3',5'-Н); 7,19 (1Н, д, 6-Н); 6,95 (1Н, т, 4'-Н)	3,86 (3Н, с, OCH <sub>3</sub> )
4і	7,03 (2Н, с, NH <sub>2</sub> )	8,69	6,75 (1Н, с, 8-Н); 6,8 (1Н, д, 6-Н); 7,61 (1Н, с, 5-Н)	10,51 (1Н, с, OH)
4к	10,23 (1Н, с, NH)	8,80	6,77 (1Н, с, 8-Н); 6,82 (1Н, д, 6-Н); 6,94 (1Н, т, 4'-Н); 7,28 (2Н, т, 3',5'-Н); 7,6 (2Н, д, 2',6'-Н); 7,65 (1Н, с, 5-Н)	10,6 (1Н, с, OH)

Потім внаслідок цис-транс-ізомеризації інтермедиату Б відбувається повторна нуклеофільна атака по карбамідній групі, що призводить до утворення лактонного циклу (схема 1). Легкість утворення 1,3,4-тіадіазольного циклу і більш м'які умови перебігу реакції в порівнянні з одержанням 1,3,4-оксадіазолілкумаринів вочевидь пояснюються більшою нуклеофільністю атому сірки, ніж атому кисню.

Для доведення структури отриманих сполуками була виконана низка інструментальних досліджень (табл. 1-2). Як видно з таблиць, ІЧ-спектри 3-(5-амінофеніл-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів (4б, 4е, 4ж, 4и, 4к) характеризуються наявністю однієї смуги валентних коливань NH групи в області 3400-3300  $\text{cm}^{-1}$ . У випадку 5-амінонезаміщених 3-(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів спостерігається вже дві вузькі смуги, зумовлені симетричними та асиметричними валентними коливаннями групи NH<sub>2</sub> в межах 3450-3300  $\text{cm}^{-1}$ . Смуги валентних коливань C=O групи лактонного циклу спостерігаються в області 1716-1688  $\text{cm}^{-1}$ . Також для синтезованих сполук характерні смуги валентних коливань C=C зв'язку помірної інтенсивності при 1600  $\text{cm}^{-1}$ .

У спектрах ПМР сполук 4а-к (табл. 2) в області 7,0-9,0 м.д. спостерігаються сигнали ароматичних протонів і зміщені у слабкі поля (8,7-9,6 м.д.) синглетні сигнали протонів у положенні 4 кума-

рину. Для сполук 3-(5-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів характерна наявність уширеного синглетного сигналу протонів групи NH<sub>2</sub> в області 7,03-7,35 м.д. При введенні в аміногрупу фенільного радикалу сигнал групи NH зміщується в слабкі поля і спостерігається в області 10,2-10,45 м.д. Крім означених сигналів у сполуках 4д, 4е, 4з, 4и спостерігаються синглети метокси груп при 3,8-3,9 м.д., а в сполуках 4в, 4і, 4к — уширений сигнал групи OH при 10,5-10,7 м.д. Для сполуки 4в спостерігається ряд сигналів у сильних полях, характерних для н-гексильного радикалу у положенні 6 кумаринового кільца.

З метою пошуку біологічно активних речовин серед синтезованих сполук був проведений їх скринінг на наявність протипухлинної та протитуберкульозної дії.

Протипухлинну активність вивчали *in vitro* в Національному інституті раку США. Протипухлинний ефект оцінювали за цитопатичним впливом тестованих сполук на клітинні культури відомих пухлин [10]. Виявилось, що більшість сполук є практично неактивними по відношенню до клітинних ракових культур. Однак, сполука 4б виявила активність по відношенню до всіх пухлин. Найбільш чутливими до цієї речовини виявились культури меланоми (LOX IM VI, MALME-3M, SK-MEL-28, UACC-257), раку яєчників (IGR-OV1,

OVCAR-3, OVCAR-4, OVCAR-5, OVCAR-8), раку нирок (786-0, A498, ACHN, CAKI-1, SN12C, TK-10, UO-31) і раку простати (PC-3, DU-145).

Протитуберкульозну дію синтезованих сполук вивчали в Національному інституті алергії та інфекційних хвороб США по відношенню до *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv за допомогою радіометричної системи BACTEC 460 [11, 12]. Результати дослідження свідчать, що тестовані сполуки виявляють антимікробну дію по відношенню до туберкульозної палички (табл. 1). Так, для сполук 4в та 4г мінімальна пригнічуєча концентрація (МПК) становить 12,5 мкг/мл, а для сполуки 4а МПК — менше 12,5 мкг/мл, тобто при цій концентрації спостерігається затримка росту мікобактерій на 90%.

Слід звернути увагу на те, що протитуберкульозна дія більше притаманна тіадіазолілкумаринам 4, ніж відповідним вихідним сполукам 3 [6].

Таким чином, проведений біологічний скринінг вказує на перспективність пошуку нових біологічно активних речовин серед похідних 3-(5-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів.

#### **Експериментальна частина**

ІЧ-спектри синтезованих сполук зареєстровані на спектрофотометрі Specord M80 у таблетках KBr. Спектри ПМР записані на приладі Varian

VXR-400 у ДМСО-D<sub>6</sub>, внутрішній стандарт — ТМС.

**Загальна методика одержання 3-(5-аміно-1,3,4-тіадіазоліл-2)кумаринів (IVa-к).** 0,01 Моль тіосемікарбазиду чи N-фенілтіосемікарбазиду розчиняли в 20-30 мл льодяної оцтової кислоти. До отриманого розчину додавали еквімолекулярні кількості 2-імінокумарин-3-карбоксаміду. Суміш кип'ятили протягом 2-3 г, потім охолоджували. Осад, що випав, відфільтровують, промивають спиртом, сушать і перекристалізовують із суміші ДМФА-спирту.

#### **Висновки**

1. Запропоновано новий метод синтезу 3-(5-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів, заснований на рециклізації 2-імінокумарин-3-карбоксамідів під впливом тіосемікарбазидів у кислому середовищі. Показані переваги такого методу над альтернативними шляхами синтезу.

2. Показано, що використання апротонних основних розчинників сприяє процесу рециклізації 2-імінокумарин-3-карбоксамідів.

3. Досліджена противухлина та протитуберкульозна дія синтезованих речовин. Показано, що пошук нових біологічно активних речовин серед похідних 3-(5-R-аміно-1,3,4-тіадіазол-2-іл)кумаринів є перспективним.

#### **ЛІТЕРАТУРА**

1. El-Farargy A.F., Fathi Y., Abdel-Chani E. et al. // *Heterocycles*. — 1992. — Vol. 34, №1. — P. 25-36.
2. Bhalla M., Hitkari A., Gujrati V. R. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* — 1994. — Vol. 29. — P. 713-717.
3. Заявка 2529434 ФРГ, МКІ 3 09 В 57/00 / Patsch M., Vamrakaris C.(BASF AG); Заявл.: 02.07.75. Опубл.: 13.01.77 / CA86:122953j.
4. Sowellim S.Z.A., Khodeir M.N.M., El-Amin S.M., Elagamey A.G.A. // *Pharmazie*. — 1988. — Vol. 43, №8. — P. 533-534.
5. Коваленко С.Н., Зубков В.А., Черных В.П. и др. // Химия гетероциклических соединений. — 1996. — №2. — С. 186-192.
6. Ситник К.М., Коваленко С.М., Черных В.П., Гончарова В.М. // Физиологично активные речовины. — 1999. — №2 (28). — С. 50-53.
7. Коваленко С.Н., Ситник К.М., Никитченко В.М. и др. // Химия гетероциклических соединений. — 1999. — №2. — С. 190-193.
8. O'Callaghan C.N., McMurry T.B.H., O'Brien J.E. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*. — 1998. — №2. — P. 425-429.
9. Силин А.В., Горобец Н.Ю., Ситник К.М., Никитченко В.М. // Вісник Харківського університету (Хім. науки). — 1997. — №1. — С. 274-277.
10. Boyd M.R. // *Principles and Practices of Oncology*. — 1989. — Vol. 3, №10. — P. 1-12.
11. Collins K.S., Franzblau S.G. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. — 1997. — Vol. 41. — P. 1004-1009.
12. Inderleid C.B., Salinger M. *Antimycobacterial agents and susceptibility tests: mycobacteria*. In: *Manual of Clinical Microbiology*/Eds. P.R.Murray, E.J.Baron, M.A.Pfaller, F.C.Tenover, R.H.Yolken-Washington D.C.: ASM Press, 1995. — P. 1385-1404.

Надійшла до редакції 10.07.2003 р.